

**UNTERSUCHUNGEN ZUR MECHANIK KONTRAKTILER
HERZMUSKELPROTEINE NORMOTONER
UND SPONTAN HYPERTONER RATTEN**

**vorgelegt von
Albert Schneider
aus
München**

München 1982
—

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München,
Klinikum Großhadern

Direktor: Prof. Dr. G. Riecker

Untersuchungen zur Mechanik kontraktiler Herzmuskelproteine
normotoner und spontan hypertoner Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians- Universität zu München

vorgeleitet von
Albert Schneider

aus
München

1982

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. B. E. Strauer

Mitherichterstatter: Prof. Dr. G. Riecker

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 8. April 1982



INHALT

A. EINLEITUNG	3
1. Essentielle und spontane Hypertonie	3
2. Strukturelle Grundlagen der Muskelkontraktion	7
3. Regulation der Muskelkontraktion	14
4. Muskeldehnungsversuche	16
5. Fragestellungen	20
B. METHODIK	22
1. Glyzerinextraktion	22
2. Inkubationslösungen	24
3. Versuchsapparatur	25
4. Versuchsdurchführung und Auswertung der Ergebnisse	27
5. Verzeichnis der Reagentien	33
C. ERGEBNISSE	34
1. Schnelle Längenänderungen an Herzmuskelpräparaten	34
1.1. Kraft- Längen- Beziehung während schneller Längenänderungen	34
1.2. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von der Amplitude der Längenänderung	38
1.3. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von den Dimensionen des Präparates	40
1.4. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von der Ca^{++} - Konzentration	40
2. Vergleich normotoner und spontan hypertoner Ratten	40
2.1. Steifness der Herzmuskelpräparate von NR und SHR	40
2.2. Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs bei NR und SHR	43
D. DISKUSSION	
1. Muskeldehnungsversuche	51
1.1. Vorgänge während des dehnungssynchronen Kraftanstiegs	51

1.2. Einfluß von Calciumionen auf die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs	53
1.3. Strukturelle Aspekte des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs bei Herzmuskelpräparaten	55
1.4. Zur Kinetik der Dehnungsaktivierung	56
1.5. Mögliche physiologische Bedeutung der Dehnungsaktivierung am Herzmuskel	65
2. Altersbedingte Veränderungen am Herzen	66
3. Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten	66
3.1. Stiffness bei verschiedenen Calciumionen-Konzentrationen	66
3.2. Geschwindigkeitskonstante τ^{-1}	
3.3. Genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten?	69
3.4. Möglichkeit eines erhöhten Sympathicus-Tonus bei spontan hypertonen Ratten	70
4. Beziehung zwischen mechanischen Parametern am isolierten kontraktilem Protein, mechanischen Parametern am Herzmuskel und enzymatischen Parametern am isolierten Herzmuskelmyosin	74
4.1. Herz- Körpergewichtsrelation und Herzgewicht	75
4.2. $dl/dt_{\max}$, $dT/dt_{\max}$ und $(dT/dt_{\max})/P_0$ am Papillarmuskel	76
4.3. ATPase-Aktivität des Myosins	80
4.4. Maximale isometrische Spannungsentwicklung und Ca^{++} -Ansprechbarkeit des isolierten kontraktilem Proteins	81
5. Spontane Hypertonie der Ratte und essentielle Hypertonie des Menschen	86
ZUSAMMENFASSUNG	87
LITERATURVERZEICHNIS	89

A. EINLEITUNG

1. ESSENTIELLE UND SPONTANE HYPERTONIE

Die häufigste Ursache chronischer Druckbelastung des Herzens ist die Hochdruckkrankheit, deren verbreitetste Form beim Menschen die essentielle Hypertonie ist. Folgen chronischer Druckbelastung sind charakteristische Veränderungen am Herzen, insbesondere eine Vermehrung der Herzmuskelmasse (Hypertrophie) und hämodynamische Veränderungen.

Das Herz bei kompensiertem essentiellen Hochdruck zeigt - solange die Sauerstoff- und Substratversorgung nicht durch eine koronare Herzkrankheit beeinträchtigt ist - unabhängig vom Ausmaß der druckreaktiven Hypertrophie eine normale oder sogar gesteigerte Ventrikelfunktion. Wenn eine koronare Herzkrankheit besteht, ist die Herzfunktion normal oder eingeschränkt - abhängig davon, ob und in welchem Ausmaß die Koronarerkrankung zu einer Beeinträchtigung der Ventrikelfunktion führt. Eine eingeschränkte Funktion des linken Ventrikels ist verbunden mit einer Erhöhung des enddiastolischen Volumens, d. h. mit einer Dilatation des linken Ventrikels. Mit steigendem enddiastolischem Volumen nimmt die Auswurffraktion des Ventrikels ab. Klinisch zeigt sich dies als Einschränkung der Ventrikelfunktion, d. h. als Dekompensation (218-221).

Zur genaueren Analyse der Funktion des hochdruckbelasteten Herzens ist ein Tiermodell wünschenswert, das den Verhältnissen bei der menschlichen essentiellen Hypertonie möglichst weitgehend entspricht. Häufig wird dazu der von Okamoto und Aoki gezüchtete Stamm spontan hypertoner Ratten (SHR) verwendet (65, 144a, 160, 236, 237). Durch Kreuzung zweier Ratten des Stammes Wistar- Kyoto, die leicht erhöhten Blutdruck aufwiesen und durch fortgesetzte Inzucht gelangten Okamoto und Aoki zu einem Inzuchtstamm, bei dem sämtliche Tiere einen erhöhten Blutdruck zeigen. Als Kontrolltiere ohne Hochdruck werden Ratten des Wistar- Kyoto- Stammes (NR = normotone Ratten) verwendet, aus dem die SHR gezüchtet wurden.

SHR zeigen, verglichen mit NR, ab einem Alter von 3 - 6

Wochen - abhängig vom untersuchten Stamm - einen erhöhten Blutdruck, der sich im weiteren Verlauf deutlich steigert (Abb. 1; 48, 58, 115, 118, 131, 159-161, 163, 236). Eine genetische Analyse bei SHR zeigt eine polygene Ätiologie des Hochdrucks; die Zahl der an der Entwicklung der Hypertonie wesentlich beteiligten Gene beträgt mindestens 2 bis 3 (230, 231).

Eine detaillierte Analyse der Ventrikelfunktion und Papillarmuskelmechanik des linken Ventrikels spontan hypertoner Ratten im Vergleich mit normotonen Wistar- Kyoto- Kontrollratten zeigt (23-26, 170):

- Die linksventrikuläre Wanddicke als Maß für die Ventrikelhypertrophie ist bei SHR mindestens ab der 5. Lebenswoche erhöht. Infolge der erhöhten Ventrikelmasse ist die systolische Wandspannung trotz des erhöhten Druckes weitgehend normal und steigt erst nach der 40. Lebenswoche als Folge einer Erhöhung des Ventrikeldradius (d. h. Ventrikeldilatation) an. Die linksventrikuläre Funktion ist normal, solange die systolische Wandspannung normal ist, d. h. mindestens bis zur 40. Woche. Erst bei ca. 80 Wochen alten SHR zeigt sich eine deutliche Einschränkung der Pumpfunktion des linken Ventrikels (25, 26, 171, 172, 178). Hierin unterscheidet sich die Hypertrophie des linken Ventrikels bei SHR von der druckreaktiven Hypertrophie durch künstliche Aortenisthmusstenose, bei der die Kontraktilität bereits in frühen Stadien der Ventrikelhypertrophie eingeschränkt ist, wenn die Druckbelastung bei erwachsenen Tieren durchgeführt wird (16). Bei neugeborenen (3 Wochen alten) Ratten bleiben die Kontraktilitätsparameter nach Druckbelastung durch künstliche Aortenisthmusstenose dagegen normal (35), was auf eine reaktive Proliferation von Herzmuskelzellen zurückgeführt wird.

- Die Steifheit des linken Ventrikels in der Diastole ist, für den ganzen Ventrikel bestimmt, bei SHR gegenüber NR erhöht. Werden jedoch die bei SHR gegenüber NR veränderten geometrischen Faktoren berücksichtigt (Verhältnis Masse/Volumen und Verhältnis Wanddicke/Radius) und die Kammersteifigkeit je Muskelquerschnitt errechnet, so ergeben sich für NR und SHR gleiche Werte (25, 26).

- Der isolierte linksventrikuläre Papillarmuskel zeigt bei

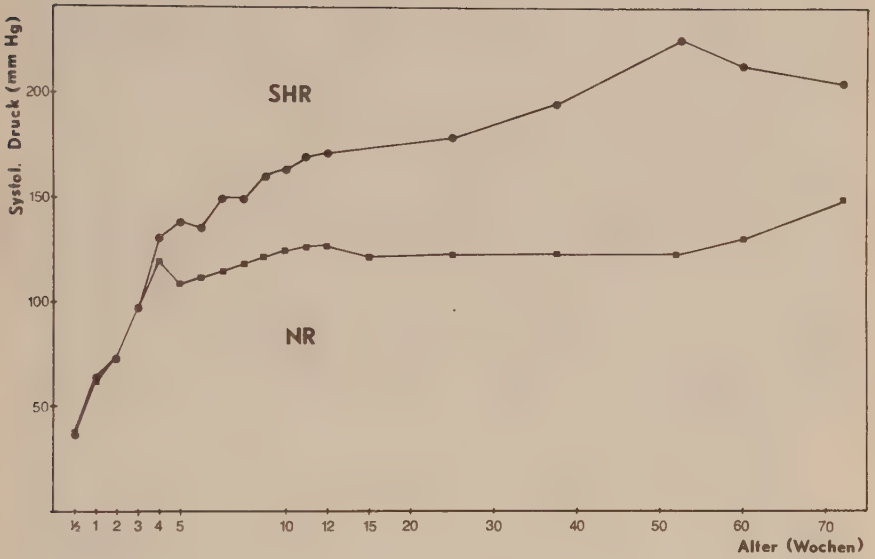


Abb. 1: Systolischer Blutdruck von spontan hypertonen Ratten (SHR) und normotonen Wistar- Kyoto- Ratten (NR) in Abhängigkeit vom Alter (Daten aus 48, 115, 118, 131).

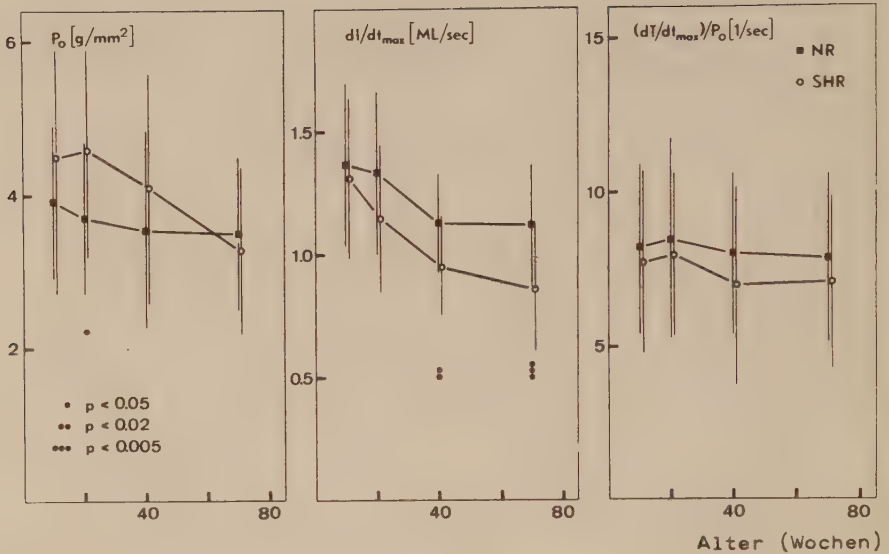


Abb. 2: Mechanische Parameter an isolierten linksventrikulären Papillarmuskeln normotoner und spontan hypertoner Ratten:
 P_o = maximale isometrische Spannungsentwicklung
 dl/dt_{max} = maximale isotonische Verkürzungsgeschwindigkeit
 $(dT/dt_{max})/P_o$ = auf die Spannung relativierte maximale Geschwindigkeit der isometrischen Spannungsentwicklung.
 dl/dt_{max} wurde an isotonischen Zuckungen bestimmt bei demjenigen Preload, bei dem die isometrische Spannungsentwicklung maximal war. ($M \pm SD$; aus 142)

SHR im kompensierten Stadium verglichen mit NR eine erhöhte isometrische Ruhespannung (P_o) sowie verminderte isotonische (dl/dt_{max}) und spannungsrelativierte isometrische ($(dT/dt_{max})/P_o$) Geschwindigkeitsparameter (Abb. 2).

- Die Dehnungs- Spannungs- Beziehung (stress- strain- relation) isolierter linksventrikulärer Papillarmuskeln ist bei NR und SHR im kompensierten Stadium gleich. Papillarmuskel 60 Wochen alter SHR zeigen eine höhere Steifigkeit (25, 26, 103).

2. STRUKTURELLE GRUNDLAGEN DER MUSKELKONTRAKTION

Die Grundvorgänge der Muskelkontraktion sind bei der Herz- und Skelettmuskulatur gleich. Nach der "sliding filament"- Theorie der Muskelkontraktion kommt die Verkürzung des Muskels durch ein Ineinandergleiten zweier verschiedener Proteinfilamente zustande, deren Länge dabei unverändert bleibt (Abb. 4). Die beiden Proteinfilamente werden als dickes und dünnes Filament bezeichnet.

Das dicke Filament (Abb. 5) ist aus Myosin- Molekülen aufgebaut. Myosin ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 500 000 und einer Länge von ca. 150 nm (111, 137). Durch proteolytische Enzyme läßt es sich in Untereinheiten aufspalten (133, 246):

"Light meromyosin" (LMM) bildet die strukturelle Grundlage der dicken Filamente.

"Heavy meromyosin" (HMM) bildet die Querbrücken, die sich vom dicken Filament aus zum dünnen Filament hin erstrecken. HMM läßt sich weiter aufspalten in "Subfragment 1" (HMM - S 1), das den "Kopf" der Querbrücke bildet, der eine Bindung mit dem dünnen Filament eingehen kann, und in "Subfragment 2" (HMM - S 2), einen langgestreckten Proteinabschnitt, der die Verbindung zwischen der Struktur des dicken Filaments (LMM) und dem Kopf der Querbrücke darstellt. HMM - S 2 stellt die elastische Struktur der Querbrücke dar und ist nach der Theorie von Huxley und Simmons das Substrat der Serieelastizität des Muskels (89, 91).

Das dünne Filament (Abb. 6) besteht aus Actin sowie den

regulationsfunktionen wahrnehmenden Proteinen Troponin und Tropomyosin. Actin ist ein globuläres Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 50 000 (111). Die Actin- Monomere sind zu einer Doppelhelix zusammengelagert. Diese Doppelhelix enthält Bindungsstellen, an die sich Querbrückenköpfe (HMM - S 1) anlagern können.

Während eines Querbrückenzyklus heften sich freie, d. h. nicht gebundene Myosinquerbrücken an Bindungsstellen des dünnen Filaments an, und zwar so, daß die Querbrückenköpfe senkrecht auf dem Actinfilament aufsitzen (Abb. 7). Daraufhin rotieren die Querbrücken in eine gegenüber dem dünnen Filament abgewinkelte Stellung, wobei die Verbindungsstelle zwischen HMM - S 1 und HMM - S 2 wie ein Gelenk wirkt. Diese abgewinkelte Stellung stellt - verglichen mit der senkrecht angehefteten - für die Querbrücke einen Zustand niedrigerer potentieller Energie dar, so daß der Querbrückenkopf die Tendenz hat, diese Stellung einzunehmen (89). Diese Konformationsänderung hat zur Folge, daß die elastische Struktur der Querbrücke, die im HMM - S 2 - Fragment lokalisiert ist, gedehnt wird. Ihre Entdehnung (die für die elastische Struktur den Übergang in einen Zustand niedrigerer potentieller Energie darstellt) hat eine Bewegung der beiden Filamente gegeneinander zur Folge (Abb. 7 unten). Daraufhin löst sich die abgewinkelte Querbrücke unter Spaltung eines ATP- Moleküls, d. h. unter Energieverbrauch vom dünnen Filament ab und der Kopf geht wieder in eine rechtwinklige Stellung über; die Querbrücke ist jetzt bereit, sich erneut am dünnen Filament anzuheften (Abb. 27; 86, 89).

Der Bewegungsumfang einer Querbrücke liegt in der Größenordnung von 10 - 12 nm (180, 191). Angaben für die Kraftentwicklung pro Querbrücke liegen bei 5 - 10 pN (191). Die Stiffness der einzelnen Querbrücke liegt bei 1.2 bis $2.2 \times 10^{-4} \text{ Nm}^{-1}$ (114).

Die aktive Bewegung des Querbrückenkopfes verbraucht Energie: ATP wird gespalten. Die dafür verantwortliche Myosin- ATPase ist im HMM - S 1 - Fragment lokalisiert (31, 111, 135, 205, 253).

Bei maximaler Aktivierung eines Muskels sind ca. 20 % (zwischen 10 und 30 %) aller Querbrücken angeheftet (96, 114,

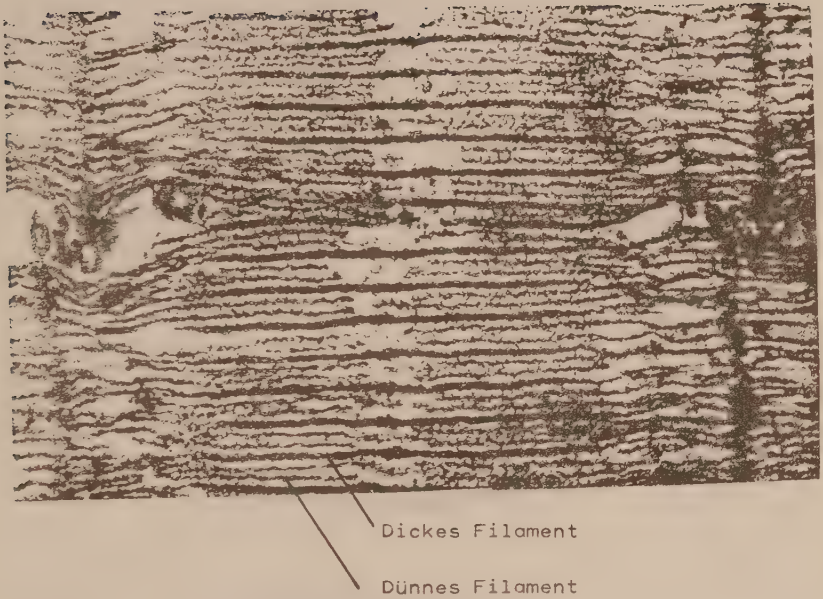


Abb. 3: Elektronenmikroskopisches Bild eines Muskels.
Kanninchenpsoas, 150 000 x Vergrößerung.
Die aneinandergelagerten dicken und dünnen Filamente sind zu erkennen (aus 92).

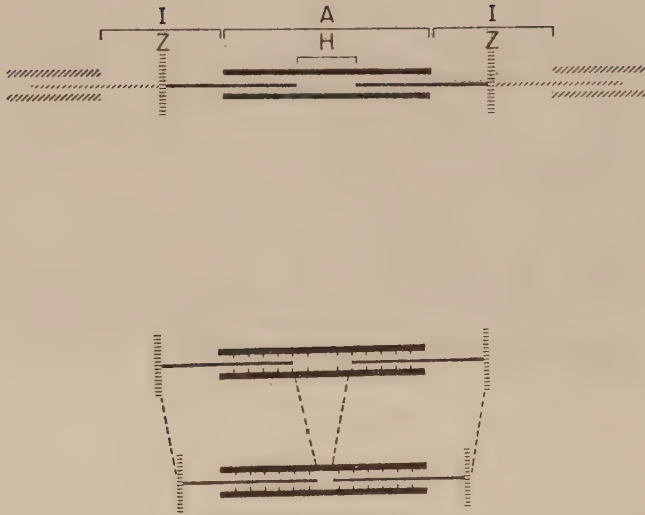


Abb. 4: Schematische Darstellung der Vorgänge bei der Muskelkontraktion: Dicke (Myosin-) und dünne (Actin-) Filamente verschieben sich gegeneinander (aus 179).

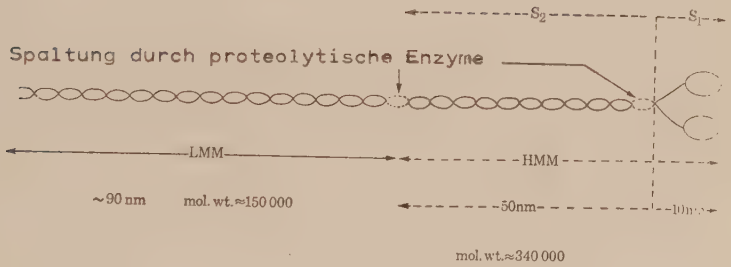
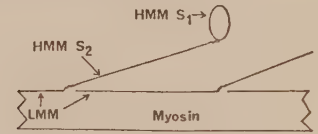
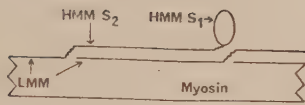


Abb. 5: Aufbau des dicken Filaments.
Erläuterung im Text (aus 93, 94).

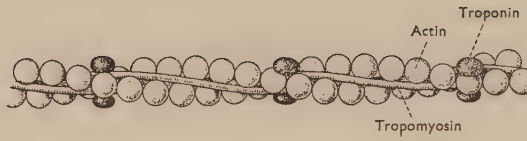


Abb. 6: Aufbau des dünnen Filaments.
Erläuterung im Text (aus 38).

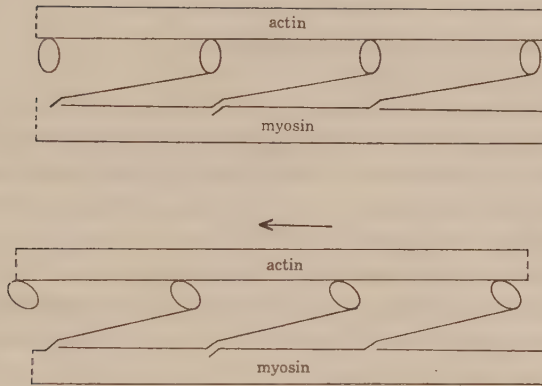


Abb. 7: Schema der Querbrückenbewegung (aus 94).

145, 191, 259), d. h. die Mehrzahl aller Querbrücken ist in jedem Fall frei und steht zur Anheftung am Actin bereit. (31, 57, 86, 87, 89, 91, 93, 94, 111, 145a, 252)

3. REGULATION DER MUSKELKONTRAKTION

Das dünne Proteinfilament des Muskels enthält neben Actin auch die beiden Proteine Troponin und Tropomyosin (Abb. 6). Sie steuern die Wechselwirkung zwischen den Myosinquerbrückenköpfen und den Bindungsstellen am Actin, indem sie diese Bindungsstellen entweder blockieren oder freigeben. Dabei kommt dem ionisierten Calcium eine entscheidende Rolle zu.

Calciumionen werden, ausgelöst durch ein Aktionspotential, vom sarkoplasmatischen Retikulum ins Zellinnere abgegeben (27, 44, 46, 53), wo sie durch Diffusion zu den kontraktilen Proteinen gelangen.

Tropomyosin, ein langgestrecktes Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 70 000, liegt in Abwesenheit von Calciumionen über den Myosinbindungsstellen des Actin und blockiert sie, wobei ein Tropomyosinmolekül sich über 7 in der Doppelhelix aneinander gelagerte Actinmonomere erstreckt (Abb. 6).

Troponin besteht aus mindestens drei verschiedenen Proteinkomplexen mit Molekulargewichten zwischen 18 000 und 37 000. Eines von ihnen, Troponin C, enthält zwei Bindungsstellen für Calciumionen. Die beiden anderen Komponenten sind Troponin I, das zusammen mit Tropomyosin die Wechselwirkung des Myosinquerbrückenkopfes mit dem Actin verhindert, und Troponin T, das die Verbindung der beiden anderen Troponinkomponenten zu Tropomyosin herstellt.

Bindung von Calciumionen an Troponin C führt über eine Reihe von Konformationsänderungen innerhalb des Troponin-Tropomyosin-Komplexes dazu, daß die Bindungsstellen des Actin für Myosinquerbrücken freigegeben werden und damit eine Wechselwirkung zwischen Myosin und Actin ermöglicht wird (Abb. 8; 184).

Die Konzentration der Calciumionen in der Umgebung der kon-

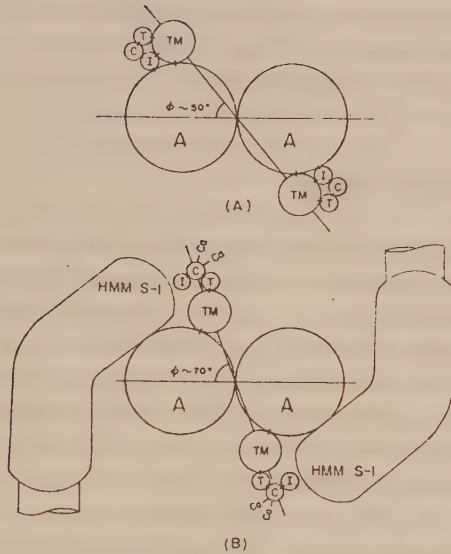


Abb. 8: Schematische Darstellung der Myosin (HMM - S 1)- Actin (A)- Wechselwirkung und ihrer Regulation durch die Troponin (T,C,I)- und Tropomyosin (TM)- Moleküle. In Abwesenheit von Calciumionen (oben) sind die Bindungsorte am Actin für die Querbrückenköpfe nicht zugänglich. Zugabe von Ca^{++} (unten) führt zu Konformationsänderungen im Troponin-Tropomyosin- Komplex, wodurch eine Wechselwirkung des Myosin mit dem dünnen Filament ermöglicht wird. Wechselwirkungen zwischen Proteinen sind durch kurze Verbindungslinien angedeutet (aus 184).

traktilen Proteine bestimmt auf diese Weise die Anzahl der freigegebenen Bindungsorte am Actin und damit das Ausmaß der Myosin- Actin- Wechselwirkung (18, 31, 36-38, 44, 45, 60, 72, 95, 111, 184, 185, 204, 241, 245).

4. MUSKELDEHNUNGSVERSUCHE

Schnelle Dehnung eines Muskelfaserpräparates innerhalb weniger Millisekunden führt zu einem charakteristischen mehrphasigen isometrischen (d. h., nach der Dehnung wird die Länge auf dem neuen Niveau konstant gehalten) Kraftverlauf (Abb. 11): Synchron mit dem Dehnungsvorgang steigt die im Präparat herrschende Kraft an; daraufhin sinkt sie wieder ab und steigt verzögert erneut an. Dieser verzögerte Kraftanstieg wird als Dehnungsaktivierung bezeichnet.

1. Dehnungssynchroner Kraftanstieg

Schnelle Dehnung eines aktivierten Muskelfaserpräparates führt zu einem dem Dehnungsvorgang zeitlich parallelen (67) Anstieg der im Präparat herrschenden Kraft. Die Höhe dieses Kraftanstieges ist abhängig von

- Der Amplitude des Dehnungsschrittes: In weiten Bereichen (bis zu ca. 1,5 % der Ruhelänge des Präparates) ist die Amplitude des Kraftanstieges der Dehnungsamplitude proportional (51, 89, Abb. 13).
- Der Konzentration freier Calciumionen am kontraktilen Protein und damit dem Anteil im Augenblick der Dehnung am Actin angehefteter Myosinquerbrücken (Abb. 13, 20).
- Der Größe des Präparates: Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstieges ist dem Querschnitt des Präparates proportional (Abb. 19).
- Der Zeitdauer der schnellen Dehnung: Da die zu einem Abfall der Kraft führenden Vorgänge (s. u.) schon während des Dehnungsvorganges beginnen, wird bei relativ langsamer Dehnung "die Spitze abgeschnitten", d. h. je schneller die Dehnung ist, um so höher ist die Amplitude des dehnungssynchronen Kraft-

anstiegs (52, 84, 201). wegen dieses als "Truncation" bezeichneten Effektes können nur Experimente mit gleicher Zeitdauer der schnellen Dehnung direkt miteinander verglichen werden.

Nach der Querbrückentheorie ist die Serieelastizität des Muskels in den Querbrücken lokalisiert (17, 83, 84, 88-91, 109). Der synchron mit der schnellen Dehnung auftretende Kraftanstieg ist Folge einer Dehnung der elastischen Komponente der Querbrücken. Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstieges ist deshalb ein Maß für die Anzahl der im Augenblick der Dehnung am Actin angehefteten und damit bei der Dehnung gedehnten Querbrücken (17, 88, 90, 257).

Die Höhe des dehnungssynchronen Kraftanstiegs ist proportional zur Dehnungsamplitude (Abb. 13). Die im Präparat herrschende Kraft ergibt sich aus der Summe der isometrisch entwickelten Kraft und der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs. Wird diese Beziehung zwischen Dehnungsamplitude und im Präparat herrschender Kraft bis zur Kraft Null extrapoliert (Abb. 18), dann ergibt sich stets der gleiche Schnittpunkt der extrapolierten Geraden mit der Abszisse; d. h. die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs bei gleicher prozentualer Dehnungsamplitude ist stets proportional zur isometrischen Ruhekraft.

Aus der Proportionalität zwischen Dehnungsamplitude und Höhe des dehnungssynchronen Kraftanstiegs (Abb. 13) folgt, daß in dem untersuchten System - nach der Querbrückentheorie den elastischen Strukturen der Querbrücken - das Hooke'sche Gesetz gültig ist (51, 199; das Hooke'sche Gesetz besagt, daß die Kraft einer Feder gleich ist dem Produkt aus der Amplitude der Dehnung und einer festen, der Feder eigenen Konstanten).

2. Dehnungsreaktiver Kraftabfall und verzögerter Kraftanstieg.

Die synchron mit der Dehnung angestiegene Kraft fällt daraufhin wieder ab (Abb. 12), sie erreicht ein Minimum und steigt dann verzögert erneut an (Abb. 11). Dieses als Dehnungsaktivierung bezeichnete Phänomen läßt sich an einer Vielzahl verschiedener Muskelarten nachweisen und ist offenbar eine Grundeigenschaft des kontraktilen Systems (Skelettmuskel von Frosch, Schildkröte, Kanninchen: 5, 51, 77, 80, 197, 198. Herzmuskel

von Kanninchen, Meerschweinchen, Ratte, Frosch, Kolibri, Rind, Schwein: 76, 80, 85, 211-215, 217. Insektenflugmuskeln von *Lethocerus maximus*, *L. cordofanus*, *L. annulipes*: 5, 6, 34, 80, 187, 196).

Derartige Phänomene wurden erstmals 1949 von Pringle am Insektenflugmuskel beschrieben (189), am Skelettmuskel 1956 von Goodall sowie Lorand und Moos (59, 129), am Herzmuskel 1970 von Steiger (211, 212).

Eine genauere Analyse des dehnungsreaktiven Kraftverlaufs an Herzmuskelpräparaten (1, 5, 215) zeigt, daß er sich mathematisch als eine Überlagerung von mehreren Exponentialfunktionen beschreiben läßt (vgl. Abb. 9):

1. Anschließend an den dehnungssynchronen Kraftanstieg fällt die Kraft wieder ab. Dieser Vorgang läßt sich mathematisch als Exponentialfunktion beschreiben und wird auf eine Ablösung durch die Dehnung alterierter Querbrücken vom Actin zurückgeführt. (Am Skelettmuskel und Insektenflugmuskel sind die Verhältnisse komplizierter: Hier läßt sich die Phase des Kraftabfalls nach der Dehnung nur als Summe von zwei Exponentialfunktionen adäquat beschreiben; 1, 5.)

2. Durch die Ablösung von Querbrücken vom Actin entsteht ein Ungleichgewicht zwischen angehefteten und abgelösten Querbrücken: Myosinbindungsstellen am Actin sind unbesetzt. Außerdem verändern sich durch die Längenänderung des Muskels die Ratekonstanten der Querbrückenbewegung (Anheftungswahrscheinlichkeit f und Ablösungswahrscheinlichkeit g ; 86). Deshalb heften sich Querbrücken an freien Bindungsstellen am Actin an. Die Dehnung der Muskelfaser führt damit zu einer partiellen Synchronisierung der Querbrückenbewegung (203, 213). Die angehefteten Querbrücken gehen in den krafterzeugenden Zustand über und führen auf diese Weise zu einem verzögerten Wiederanstieg der im Präparat herrschenden Kraft.

Ein ähnliches Modell, das ebenfalls als Reaktion auf die Längenänderung zuerst eine Konformationsänderung, dann eine Ablösung und zur Wiederherstellung des gestörten Gleichgewichts eine verzögerte Wiederanheftung von Querbrücken annimmt,

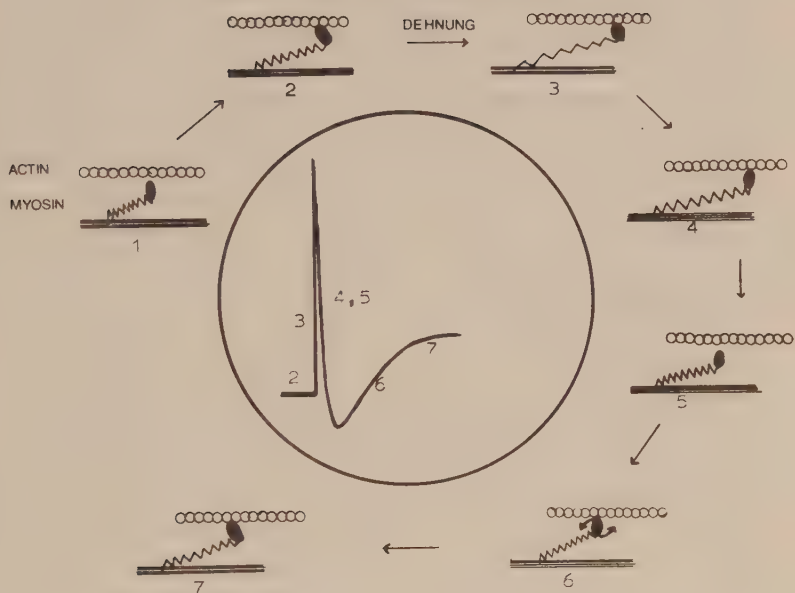


Abb. 9: Schematische Darstellung der Vorgänge am Actomyosin bei und nach der schnellen Dehnung eines aktivierten Muskelfaserpräparates (vgl. Abb. 11):

Die im krafterzeugenden Zustand angehefteten Querbrücken (2) werden während der schnellen Dehnung in ihren elastischen Strukturen gedehnt (3), wodurch die im Muskelfaserpräparat herrschende Kraft ansteigt. Die darauffolgende Rotation und Ablösung von Querbrücken führt zu einem Absinken der Kraft (4, 5). An die jetzt freigewordenen Myosinbindungsstellen am Actin heften sich Querbrücken an (6) und gehen in den krafterzeugenden Zustand über (6, 7), wodurch die Kraft wieder ansteigt.

entwickelten Julian und Mitarbeiter (109) auf der Grundlage kinetischer Betrachtungen der Querbrückenbewegung.

Der verzögerte dehnungsreaktive Kraftanstieg wird also als Folge einer synchronen Anheftung von Querbrücken am Actin betrachtet. Seine Geschwindigkeit ist deshalb abhängig von der Rotationsgeschwindigkeit der Querbrücken des betreffenden Muskels (5, 214, 232) und kann als Maß für diese verwendet werden.

5. FRAGESTELLUNGEN

Die vorliegende Untersuchung erstreckt sich auf folgende Fragen:

1. Welche Rückschlüsse lassen sich aus dem Kraftverlauf während der schnellen Längenänderung und im Anschluß an die schnelle Längenänderung funktionell isolierter kontraktile Proteine des Herzmuskels ziehen auf Elementarvorgänge im Muskel während der schnellen Längenänderung und im Anschluß an die schnelle Längenänderung, d. h. auf den Mechanismus der Dehnungsaktivierung?

2. Welche Rückschlüsse lassen sich aus dem Kraftverlauf während und nach schneller Längenänderung funktionell isolierter kontraktile Proteine des Herzmuskels ziehen auf die Kinetik der Bewegung der Myosinquerbrücken, d. h. auf die Geschwindigkeit der Querbrückenbewegung und auf die Zustände, die die Querbrücken in den Gleichgewichtszuständen vor und nach Längenänderungen einnehmen?

Die Untersuchungen sollten an normotonen und spontan hypertonen Ratten unterschiedlichen Alters durchgeführt werden, um die Fragen zu beantworten:

3. Verändert sich der Dehnungswiderstand funktionell isolierter kontraktile Proteine des Herzmuskels bei verschiedenen Konzentrationen freier Calciumionen mit dem Alter der Tiere?

4. Bestehen Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten?

5. Verändert sich die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs mit dem Alter der Tiere?

6. Bestehen Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten?

7. Falls Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten bestehen: Lassen sich diese bereits in prähypertensiven Stadien spontan hypertoner Ratten nachweisen oder lassen sie sich ausschließlich als Folge der Hypertonieentwicklung bzw. der hochdruck- reaktiven Hypertrophie erklären?

Die auf diese Weise gewonnenen Daten sollten in Beziehung gesetzt werden zu Daten über mechanische Eigenschaften des intakten Myokards und über enzymatische Eigenschaften des isolierten Herzmuskelmyosins:

8. Besteht eine Beziehung zwischen der Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs und dem Herzgewicht bzw. der Herz- Körpergewichtsrelation als Maß für die Myokardhypertrophie? Bestehen dabei Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten?

9. Besteht eine Beziehung zwischen der Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs und der Geschwindigkeit der isometrischen und der isotonischen Kontraktion des linksventrikulären Papillarmuskels? Bestehen dabei Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten?

10. Besteht eine Beziehung zwischen der Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs und der ATPase-Aktivität des isolierten Herzmuskelmyosins? Bestehen dabei Unterschiede zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten?

11. Lassen sich Unterschiede in der von isolierten Papillarmuskeln entwickelten isometrischen Spannung durch unterschiedliche Eigenschaften der isolierten kontraktilen Proteine erklären?

B: METHODIK

Spontan hypertone Ratten des Stammes Okamoto (SHR; 160) und normotone Ratten des Wistar- Kyoto- Stammes, aus dem die SHR ursprünglich gezüchtet wurden (NR) als Vergleichstiere in den Altersstufen 2 (n = je 7), 10 (n = je 8), 38 (n = je 8), 80 (n = 8 SHR, 5 NR) und 110 (n = 6 NR) Wochen wurden verwendet. Die Tiere wurden von der Fa. Madörin, Füllinsdorf, Schweiz bezogen.

Die linksventrikulären Papillarmuskeln wurden mit Glycerinlösung behandelt, was zu einer funktionellen Isolierung der kontraktilen Proteine durch weitgehende Zerstörung der Membransysteme führte. Dadurch war es möglich, die kontraktilen Proteine einem kontrollierten chemischen Milieu auszusetzen, da Diffusionsbarrieren weitgehend ausgeschaltet waren.

1. GLYZERINEXTRAKTION

in Anlehnung an Szent- Györgyi (226), Jewell und Rüegg (104) und Herzig (80).

Die Herzen äthernarkotisierter Ratten wurden durch Thorakotomie entnommen und die linksventrikulären Papillarmuskeln freipräpariert. Die Papillarmuskeln wurden bei Ruhelänge mit Nadeln auf Korkplättchen fixiert und 48 Stunden in Glycerinlösung bei 4 °C extrahiert, wobei die Lösung nach 24 Stunden erneuert wurde. Dann wurden die Präparate in frischer Glycerinlösung bei -20 °C aufbewahrt, mindestens eine Woche. Bei dieser Aufbewahrung bleiben die Präparate 6 bis 8 Wochen lang uneingeschränkt funktionsfähig, bei Aufbewahrung in -80 °C viele Monate lang. Es wurde darauf geachtet, daß die Aufbewahrungsdauer in Glycerinlösung bei den Präparaten von NR und SHR gleich lang war, damit nicht durch eine verschiedenen lange Lagerungsdauer Unterschiede vorgetäuscht werden konnten.

Extraktionslösung:

Glycerin	50 vol%
Aqua dest.	50 vol%
Histidin	20 mM
NaN ₃	10 mM
pH	= 7.0

Eigenschaften glyzerinextrahierter Muskelpräparate

Untersuchungen an glyzerinextrahierten Muskelpräparaten zeigten, daß durch die Glycerinbehandlung keine vollständige Isolierung des Systems der kontraktile Proteine erreicht wird:

- Glyzerinextrahierte Präparate des Kanninchen- Psoas sind in der Lage, ATP- abhängig Calciumionen aufzunehmen (42). Elektronenmikroskopische (168) und biochemische (47) Untersuchungen ergaben, daß dafür Strukturen des sarkoplasmatischen Retikulums verantwortlich sind.

- Nach kurzer (1- bis 12- stündiger) Glyzerinextraktion führt eine Dehnung der Präparate zu einem verzögerten Spannungsanstieg innerhalb von Minuten, der auf eine Freisetzung von Calciumionen aus Vesikeln des sarkoplasmatischen Retikulums zurückzuführen ist (20). Dieser Vorgang hat keine Beziehung zu der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Dehnungsaktivierung.

- Vier Wochen lang in NaN₃- freier Glyzerinlösung extrahierte Präparate des Kanninchen- Psoas sind in der Lage, Sauerstoff zu verbrauchen (256).

- Mit NaN₃- freier Glyzerinlösung behandelte Präparate von Insektenflugmuskeln sind zu sauerstoff- und substatabhängiger Atmung und zu oxydativer Phosphorylierung fähig (4). Diese Fähigkeiten sind in den Mitochondrien lokalisiert. Durch das bei den hier beschriebenen Untersuchungen allen Lösungen zugesetzte NaN₃ wird die Mitochondrienaktivität gehemmt (104, 123, 200, 224).

- Einige Autoren (122) beobachteten bei Zugabe von Ouabain zu glyzerinextrahierten Herzmuskelfasern eine Zunahme der isometrischen Spannung, andere (148) eine Abnahme oder keine Veränderung der Muskelarbeit, isotonischen Kontraktionsgeschwindigkeit und isometrischen Ruhespannung bzw. der isometrischen Kontraktionsgeschwindigkeit, isometrischen Relaxationsgeschwindigkeit und isometrischen Spannung unter Digitalis (43, 223).

- Der Ventrikelmuskel des Krötenherzens zeigt nach 3 x 24- stündiger Extraktion bei 0 °C in NaN₃- freier Lösung und weiterer Lagerung bei -15 °C elektronenmikroskopisch teilweise erhaltene Membranstrukturen, insbesondere viele Mitochondrien. Enzymaktivitäten der Succinatdehydrogenase, Cytochromoxydase und Phosphatase sind vorhanden und nehmen mit der Dauer der Lagerung ab. In ATP- freier Inkubationslösung zeigen die Präparate ein Ruhemembranpotential von ca. 40 mV nach dreiwöchiger und 30 - 35 mV nach sechswöchiger Behandlung (unbehandelt 90 - 95 mV; 153)

Durch die Extraktion in wässriger Glycerinlösung werden die Zellwände und Membranen auf osmotischem Wege zerstört (213). Einige Membranstrukturen bleiben teilweise intakt, jedoch dürfte das Ausmaß der funktionellen Isolierung der kontraktilen Proteine sicher ausreichend sein, um durch die Ausschaltung von Diffusionsbarrieren eine Kontrolle des chemischen Milieus, in dem sich die kontraktilen Proteine befinden, zu ermöglichen.

2. INKUBATIONSLOSUNGEN

Kontraktionslösung:

ATP	15 mM
MgCl ₂	15 mM
Imidazol	20 mM
CaCl ₂	4 mM
EGTA	4 mM
NaN ₃	10 mM
pH = 6.7	

(Freie Ca⁺⁺-Konzentration = 5.7×10^{-5} M).

Erschlaffungslösung: Gleiche Zusammensetzung wie Kontraktionslösung, jedoch ohne CaCl₂ (Freie Ca⁺⁺-Konzentration $\leq 10^{-8}$ M)

Waschlösung:

KCl	20 mM
Imidazol	20 mM
NaN ₃	5 mM
MgCl ₂	15 mM
EGTA	4 mM
pH = 6.7	

In vivo liegt die intrazelluläre ATP-Konzentration bei 5 mM (144, 194). In den Inkubationslösungen wurde die ATP-Konzentration höher als natürlicherweise vorkommend gewählt, damit auch im Zentrum des Präparates stets eine ausreichende ATP-Versorgung gewährleistet ist.

Natriumazid (NaN₃) hemmt das Bakterienwachstum und eine evtl. vorhandene Aktivität von Mitochondrien (104, 123, 200,

224), nicht jedoch des sarkoplasmatischen Retikulums (123, 146).

Bestimmung der freien Ca^{++} -Konzentration

Die Calciumionenkonzentration im Inkubationsmedium wurde durch Mischung von Kontraktions- und Erschlaffungslösung eingestellt. Calciumionen und der Komplexbildner EGTA bilden ein Ca^{++} -Puffersystem, durch das die freie Ca^{++} -Konzentration konstantgehalten wird.

$$K = \frac{[\text{CaEGTA}]}{[\text{Ca}^{++}] \times [\text{EGTA}]}$$

Die Dissoziationskonstante K ist vom pH abhängig und beträgt bei pH = 6.7 : $K = 10^{6.089}$ (19, 104, 108, 158, 183, 243, 244).

3. VERSUCHSAPPARATUR

Die Versuchsapparatur ermöglichte Längenänderungen der Präparate innerhalb von ca. 3 Millisekunden und die Aufzeichnung der resultierenden isometrischen Kraftverläufe.

Die Apparatur (Abb. 10) bestand aus einem rückkopplungs-gesteuerten Servomotor, bei dem durch einen Elektromagneten ein im Zentrum dieses Magneten befindlicher Eisenstab innerhalb von ca. 3 msec. bewegt wurde. Mit diesem beweglichen Eisenstab war ein Glasstab fest verbunden, so daß eine Bewegung dieses Glasstabes über verschieden lange Wege innerhalb von ca. 3 msec. möglich war. Ein zweiter Glasstab war an einer Kraftaufnehmeröhre (RCA 5734) befestigt, die über minimale Auslenkungen einer Wackelanode Kraftänderungen als Widerstandsänderungen aufnimmt. Die Compliance des Kraftaufnehmers lag bei $1 \mu\text{m}/100 \text{ dyn}$, so daß isometrische Bedingungen in ausreichendem Maße gewährleistet waren. Die Eigenresonanzfrequenz der Kraftaufnehmeröhre mit Glasstab lag bei 1 kHz.

Der Kraftverlauf wurde über einen Verstärker auf einem Tecronix 5103 N Oszilloskop in Abhängigkeit von der Zeit geschrieben und mit einem Ultraviolettsschreiber (Honeywell 1858 Visicorder) aufgezeichnet.

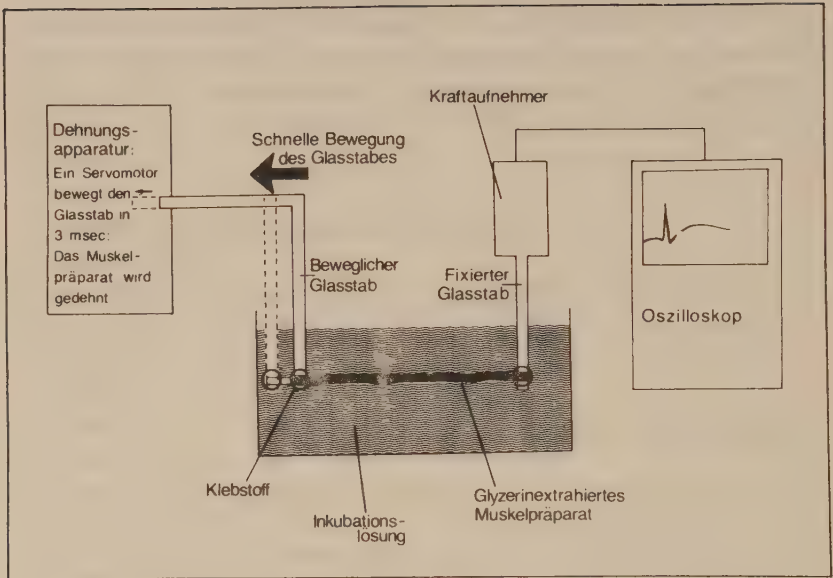


Abb. 10: Schema des Versuchsaufbaus:

Die glyzerinextrahierte Muskelfaser wird durch den Servomotor gedehnt (links) und der dehnungsreaktive isometrische Kraftverlauf wird aufgezeichnet (rechts).

4. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG UND AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Aus glyzerinextrahierten linksventrikulären Papillarmuskeln wurden unter einem Stereomikroskop mit Pinzette und Skalpell Präparate mit einer Länge von 2 bis 3 mm und einem Durchmesser von 0.2 bis 0.3 mm zurechtgeschnitten, wobei streng auf einen parallelen Faserverlauf geachtet wurde. Diese Präparate wurden in Waschlosung ca. eine Minute gewaschen und mit einem schnell-trocknenden Klebstoff (Cellulosenitrat, gelöst in Aceton) mit ihren Enden an den beiden Glasstäben der Versuchsanordnung befestigt.

Die Ruhelänge L_0 wurde in Erschlaffungslösung bestimmt als diejenige Muskellänge, bei der gerade noch keine elastische Spannung auftrat. Dann wurde die Erschlaffungslösung durch Kontraktionslösungen mit verschiedener freier Ca^{++} -Konzentration (in absteigender Reihe, d. h. beginnend mit der höchsten Ca^{++} -Konzentration) ersetzt. In jeder Inkubationslösung wurden schnelle Dehnungen mit Amplituden von 0.2 bis 1 % der Ruhelänge L_0 durchgeführt. Die Versuchstemperatur betrug in allen Fällen 22 °C.

Die Impulsausbreitungsgeschwindigkeit im Präparat ist sicher so schnell, daß sie vernachlässigt werden kann (68, 207).

Schnelle rechteckförmige Dehnung eines isolierten Muskelfaserpräparates führt zu einem mit der Längenänderung synchronen Kraftanstieg. Die Höhe dieses initialen Kraftanstiegs, genannt T_1 (Abb. 14) ist proportional zur Dehnungsamplitude. Aus jeweils 8 Messungen mit 4 verschiedenen Dehnungsamplituden wurde nach der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate eine Gerade interpoliert, deren Steilheit ein Maß für die Steifness des Präparates ist. Der Ausdruck "Steifness" wird in der vorliegenden Arbeit in Anlehnung an Huxley und Simmons (89) verwendet und bezeichnet den Dehnungswiderstand eines Muskelfaserpräparates bei schneller Dehnung.

Die Geschwindigkeit des verzögerten Kraftanstiegs wird durch die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} ausgedrückt. Als τ wird in Anlehnung an Herzog (80) die Zeit bezeichnet, die verstreicht,

bis der gegen den Zeitpunkt der Dehnung extrapolierte Kraftverlauf einen Wert erreicht, der um $\frac{1}{e}$ kleiner ist als der Maximalwert (Abb. 14). Der Kehrwert von τ , die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} , ist ein Maß für die Geschwindigkeit des dehnungsreaktiven Kraftanstiegs. Unter der Annahme eines exponentiellen Kurvenverlaufs läßt sich die Kraft als Funktion der Zeit nach der in Abb. 14 angegebenen Formel darstellen:

$$T(t) = T_{\max} - T_{\max} \cdot e^{-t \cdot \tau^{-1}}$$

Die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} ist also ein spannungsunabhängiger Geschwindigkeitsparameter; die Einheit ist msec^{-1} . Die im Folgenden angegebenen Werte für τ^{-1} wurden bei einer freien Ca^{++} -Konzentration von 1.4×10^{-5} M und einer Dehnungsamplitude von 0.5 % der Ruhelänge bestimmt.

Ruhelänge und Durchmesser der in der Versuchsanordnung eingespannten Präparate wurden mit einem Okularmikrometer gemessen. Die durchschnittliche zwischen den Glasstäben gemessene Länge der Präparate betrug 1.91 mm (NR: 1.91 ± 0.43 ; SHR: 1.90 ± 0.42), der durchschnittliche Durchmesser 0.25 mm (NR: 0.24 ± 0.05 ; SHR: 0.25 ± 0.06 ; alle Angaben $M \pm SD$). Der Querschnitt der Präparate wurde aus dem Durchmesser berechnet, wobei eine zylindrische Form des Präparates zugrundegelegt wurde.

Zur statistischen Analyse wurde der t-Test für unverbundene Stichproben (doppelseitige Prüfung) verwendet.

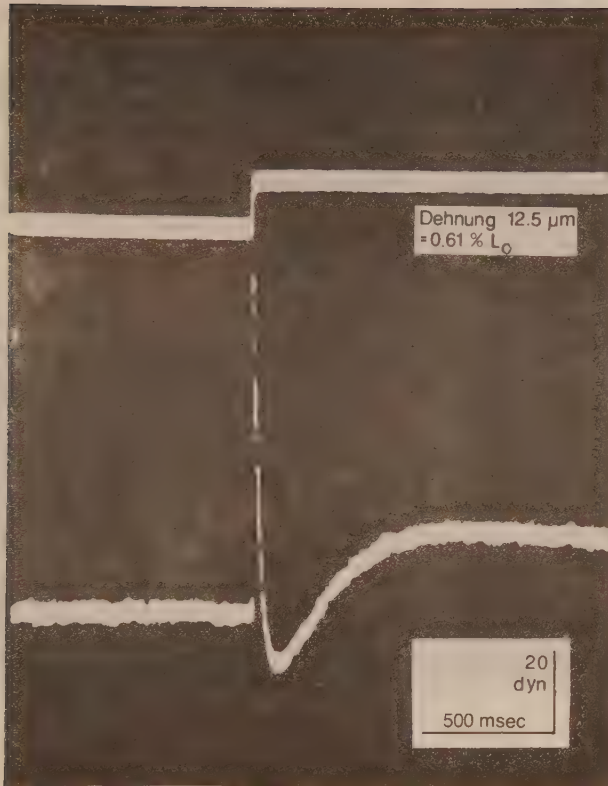


Abb. 11: Originalregistrierung des Kraftverlaufs bei schneller Dehnung eines Herzmuskelpräparates.

Glyzerinextrahierter Rattenpapillarmuskel.

Obere Aufzeichnung: Längenänderung des Präparates.

Untere Aufzeichnung: Kraftverlauf.

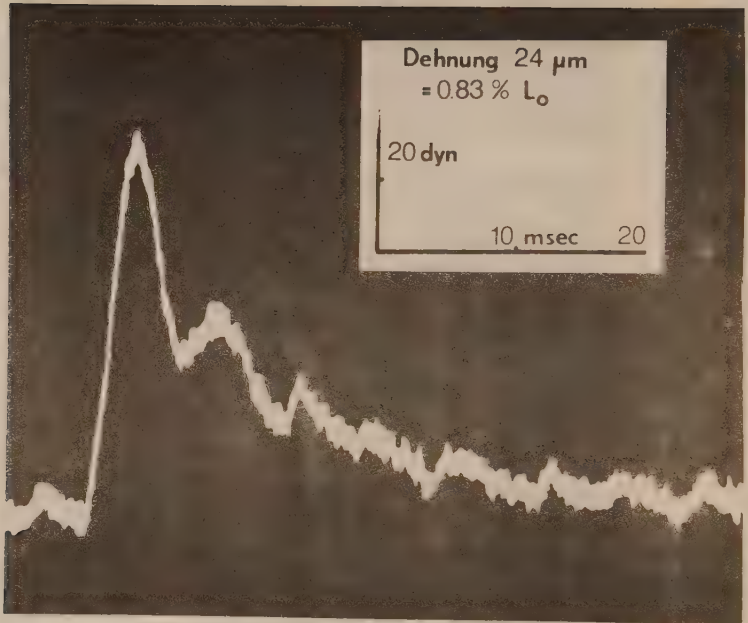


Abb. 12: Originalregistrierung des Kraftverlaufs bei schneller Dehnung eines Herzmuskelpräparates.

Glyzerinextrahierter Rattenpapillarmuskel.

Die Aufzeichnung zeigt den auf die Dehnung des Präparates (Dauer der Dehnung: 3 msec.) folgenden schnellen Abfall der Kraft.

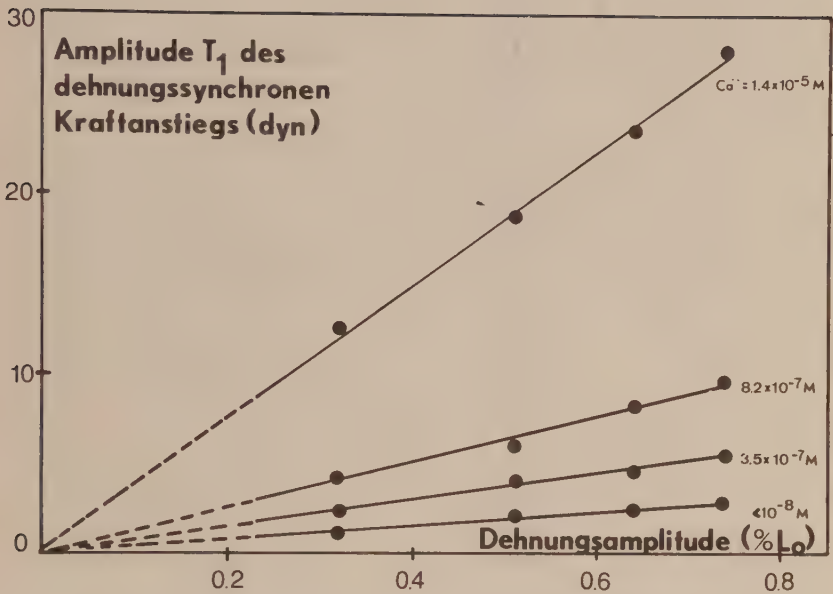


Abb. 13: Die Höhe des dehnungssynchronen Kraftanstiegs (T_1) ist proportional zur Dehnungsamplitude und steigt mit der Anzahl im Augenblick der Dehnung angehefteter Querbrücken: Mit steigender Ca^{++} -Konzentration nimmt die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs zu.

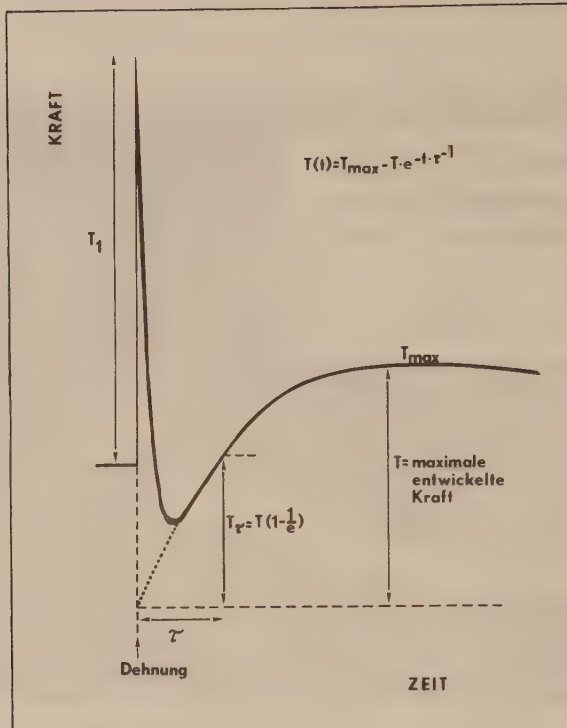


Abb. 14: Bestimmung der Parameter des dehnungsreaktiven Kraftverlaufs: Die Höhe des dehnungssynchronen initialen Kraftanstiegs wird als T_1 bezeichnet. Die während des verzögerten Kraftanstiegs maximal erreichte Kraft wird T_{max} genannt. Die Kurve des verzögerten Kraftanstiegs wird bis zum Zeitpunkt der Dehnung ($\uparrow$) extrapoliert (.....). τ ist die Zeit in msec., die verstreicht, bis die extrapolierte Kurve einen Wert erreicht, der um $\frac{1}{e}$ kleiner ist als der Maximalwert des verzögerten Kraftanstiegs; dieser Wert wird als T_τ bezeichnet. Der Kehrwert von τ ist die Geschwindigkeitskonstante des verzögerten Kraftanstiegs, τ^{-1} .

5. VERZEICHNIS DER REAGENTIEN

Bezeichnung	Bezugsquelle
ATP = Adenosintriphosphat, Di- Natriumsalz	Boehringer Mannheim
EGTA = Aethylenglykol- bis- (2- aminoethyläther) N, N'- tetraessigsäure	Serva
NaN ₃	Serva
Alle übrigen Chemikalien	Merck

C. ERGEBNISSE

1. SCHNELLE LÄNGENÄNDERUNGEN AN HERZMUSKELPRÄPARATEN

1.1. Kraft- Längen- Beziehung während schneller Längenänderungen

Werden glyzerinextrahierte Herzmuskelpräparate unter Konstanthaltung ihrer Länge in einer ATP und Calciumionen enthaltenden Lösung inkubiert, dann entwickeln sie isometrische Kraft. Wenn ein solches aktiviertes Präparat schnell (d. h. innerhalb weniger Millisekunden) um kleine Beträge gedehnt wird, hat dies einen mit der Dehnung synchronen Kraftanstieg im Präparat zur Folge (Abb. 11).

Um die Beziehung zwischen Längenänderung und Kraftverlauf während des Dehnungsvorganges am Herzmuskelpräparat genauer zu analysieren, wurde am Oszilloskop die Kraft in Abhängigkeit von der Länge des Präparates während des dehnungssynchronen Kraftanstiegs aufgezeichnet. Abb. 15 zeigt ein derartiges Längen- Kraft- Diagramm bei einer Dehnung des Präparates um 1 % seiner Ruhelänge. Die Steilheit des längenabhängigen Kraftverlaufs zu jedem Zeitpunkt repräsentiert direkt den Differentialquotienten der Kraft nach der Länge. Wie die Abbildung zeigt, kommt die während des Dehnungsvorganges aufgezeichnete Längen- Kraft- Beziehung einer Geraden sehr nahe; die Steilheit des Kraftverlaufs in Abhängigkeit von der Länge nimmt während des Dehnungsvorganges kontinuierlich, wenn auch äußerst geringfügig ab (auf der Abbildung: Der Kraftverlauf ist leicht nach links konvex). Dies bedeutet: Der Differentialquotient der Kraft nach der Länge ist annähernd konstant; er nimmt während des Dehnungsvorganges kontinuierlich geringfügig ab.

Bei Entdehnung des Präparates, d. h. Rückkehr zur Ausgangslänge, ist die Kraft- Längen- Beziehung entsprechend (Abb. 16).

Das eben beschriebene Verhalten gilt für Dehnungsamplituden bis zu 1 bis 2 % der Ruhelänge des Präparates. Bei höheren Dehnungsamplituden (in Abb. 17: 5 % der Ruhelänge) ist die

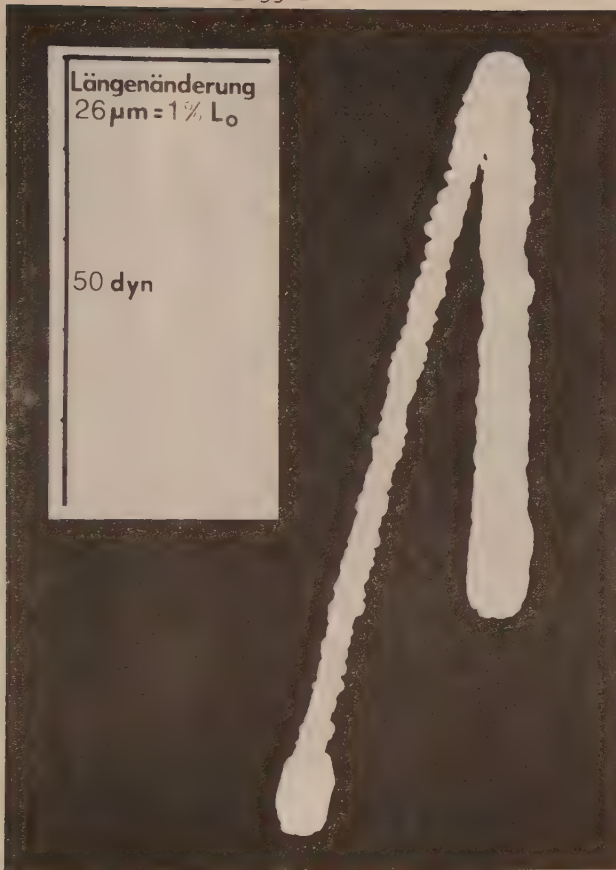
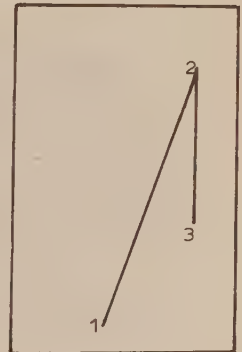


Abb. 15: Längen- Kraft- Beziehung während der schnellen Dehnung und des anschließenden isometrischen Kraftverlaufs an einem glyzerinextrahierten Herzmuskelpräparat, Linksventrikulärer Papillarmuskel der Ratte, Ruhelänge des Präparates 2.60 mm, freie Calciumionenkonzentration 5×10^{-5} M, Dehnungsamplitude 1 % der Ruhelänge. Auf der Abszisse ist die Länge, auf der Ordinate die zu ihr korrespondierende Kraft aufgetragen. Zu Beginn des Dehnungsvorganges befindet sich die Längen- Kraft- Beziehung auf Punkt 1 (siehe nebenstehendes Schema). Während des 3 msec. dauernden Dehnungsvorganges wird die Strecke von 1 nach 2 durchlaufen; anschließend sinkt unter isometrischen Bedingungen die Kraft wieder ab (2→3).



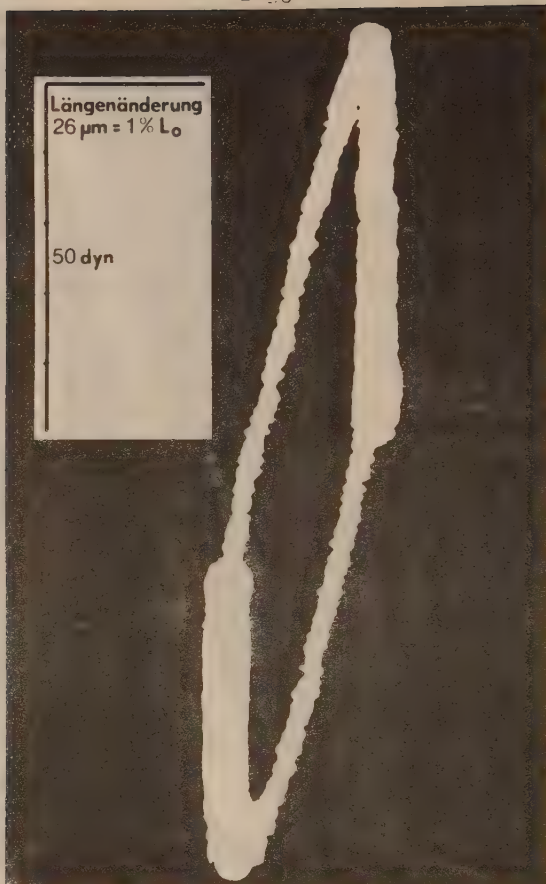
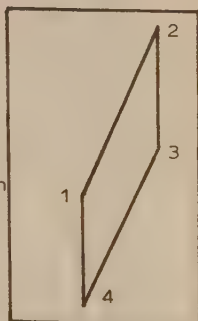


Abb. 16: Längen- Kraft- Beziehung während der schnellen Dehnung und anschließenden Rückkehr zur Ausgangslänge an einem glyzerinextrahierten Herzmuskelpräparat. Gleiches Präparat und gleiche Bedingungen wie Abb. 15. Während des 3 msec. dauernden Dehnungsvorganges wird die Strecke von Punkt 1 nach 2 durchlaufen, anschließend fällt die Kraft isometrisch ab (2→3). Während des ebenfalls 3 msec. dauernden Entdehnungsvorganges (Rückkehr zur Ausgangslänge) wird die Strecke 3→4 durchlaufen, anschließend steigt die Kraft isometrisch auf den Ausgangswert an (4→1); Die Längen- Kraft- Beziehung kehrt zum Ausgangspunkt zurück.



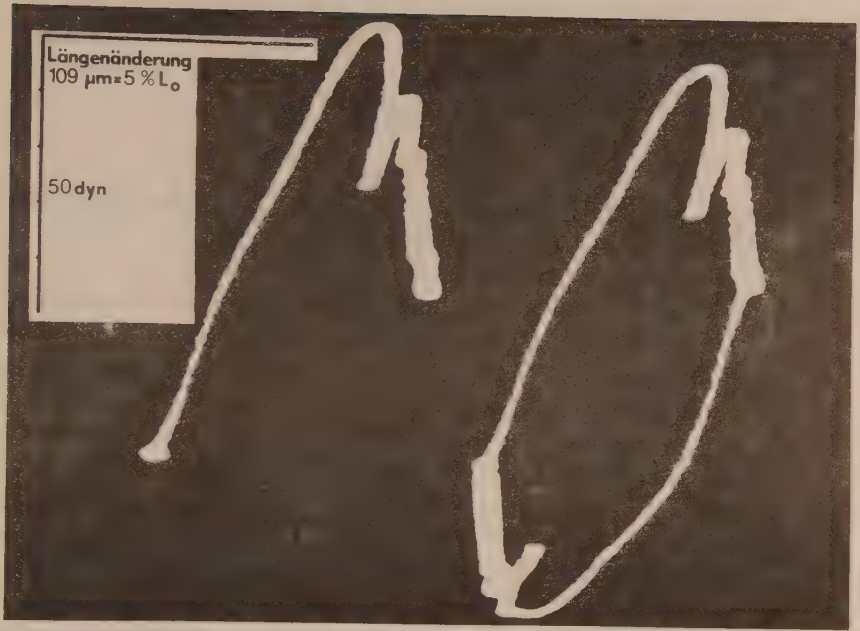


Abb. 17: Längen- Kraft- Beziehung bei schneller Längenänderung eines Herzmuskelpräparates um höhere Beträge.

Linksventrikulärer Papillarmuskel der Ratte, Ruhelänge des Präparates 2.17 mm, freie Ca^{++} - Konzentration 5×10^{-5} M, Amplitude der Längenänderung 5 % der Ruhelänge.

Die linke Seite zeigt das Verhalten der Kraft in Abhängigkeit von der Länge während und nach schneller Dehnung entsprechend Abb. 15, die rechte Seite während und nach schneller Dehnung und Entdehnung entsprechend Abb. 16.

Proportionalität zwischen Kraft- und Längenänderung während des gesamten Dehnungs- bzw. Entdehnungsvorganges nicht mehr gegeben. Nur während der ersten Abschnitte der Längenänderung gilt die beschriebene lineare Beziehung.

1.2. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von der Amplitude der Längenänderung

Wie Abb. 13 zeigt, ist die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs proportional zur Amplitude der Längenänderung. Diese Beziehung besteht bei allen untersuchten Konzentrationen freier Calciumionen.

Die im Präparat herrschende Kraft setzt sich zusammen aus der in der Inkubationslösung isometrisch entwickelten Kraft und der infolge der schnellen Längenänderung synchron mit dieser entwickelten Kraft. In Abb. 18 ist die im Präparat insgesamt herrschende Kraft, d. h. die Summe aus isometrisch entwickelter Kraft und Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs, in Abhängigkeit von der Amplitude der Längenänderung aufgetragen. Extrapolation der resultierenden Geraden bis zur Kraft Null ergibt stets den gleichen Schnittpunkt mit der Abszisse - d. h. bei der gleichen prozentualen Amplitude der Entdehnung würde die im Präparat herrschende Kraft auf Null absinken. Dieses Verhalten ist unabhängig von der Ca^{++} -Konzentration, unabhängig von der Größe des Präparates und gleich bei Präparaten normotoner und spontan hypertoner Ratten. Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs bei gleicher prozentualer Längenänderung ist somit stets proportional zur isometrisch entwickelten Kraft.

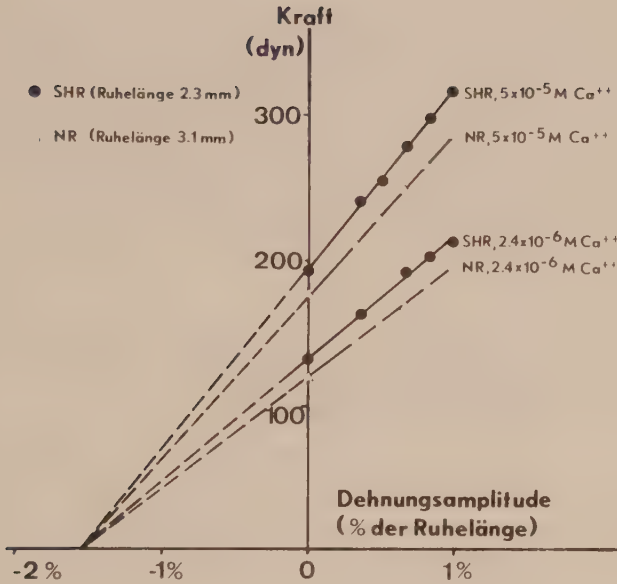


Abb. 18: Beziehung zwischen der im Herzmuskelpräparat herrschenden Kraft und der prozentualen Amplitude der schnellen Längenänderung.

Die im Präparat herrschende Kraft setzt sich zusammen aus der isometrisch entwickelten Kraft (Kraft bei Dehnungsamplitude 0 %) und der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs; letztere ist der Dehnungsamplitude proportional. Extrapolation der resultierenden Geraden bis zur Kraft Null ergibt stets den gleichen Schnittpunkt mit der Abszisse.

1.3. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von den Dimensionen des Präparates

Die auf die prozentuale Dehnungsamplitude bezogene Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs (= Stiffness) zeigt eine enge Korrelation mit dem Querschnitt des Präparates (Korrelationskoeffizient $r = 0.89$). Zwischen der Ruhelänge des Präparates und der Stiffness besteht keine Korrelation. Zwischen dem Volumen des Präparates als dem Produkt aus Ruhelänge und Querschnitt und der Stiffness besteht dementsprechend eine lockere Korrelation (Abb. 19).

1.4. Abhängigkeit der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs von der Ca^{++} -Konzentration

Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs ist in Anwesenheit von ATP von der Konzentration freier Calciumionen im Inkubationsmedium abhängig. Halblogarithmische Darstellung der Beziehung zwischen Ca^{++} -Konzentration und Stiffness ergibt eine S-förmige Beziehung im Bereich zwischen 10^{-8} und 5×10^{-5} M Ca^{++} . Diese Konzentrations-Wirkungs-Beziehung zeigt bei niedrigen (10^{-8} M) und hohen ($> 10^{-5}$ M) Ca^{++} -Konzentrationen einen flachen Verlauf, d. h. Änderungen der Ca^{++} -Konzentration führen in diesen Bereichen nur zu geringen Änderungen der Stiffness. Die Halbwirksamkeit (EC_{50}) liegt bei $\text{pH} = 6.7$ in der Größenordnung von 10^{-6} M.

2. VERGLEICH NORMOTONER UND SPONTAN HYPERTONER RATTEN

2.1. Stiffness der Herzmuskelpräparate von NR und SHR

Die maximale Stiffness glyzerinextrahierter Herzmuskelpräparate korreliert eng mit dem Querschnitt der Präparate. (Abschnitt 1.3). Dabei bestehen in der maximalen Stiffness pro Querschnitt zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten

GLYZERINEXTRAHIERTE HERZMUSKELPRÄPARATE

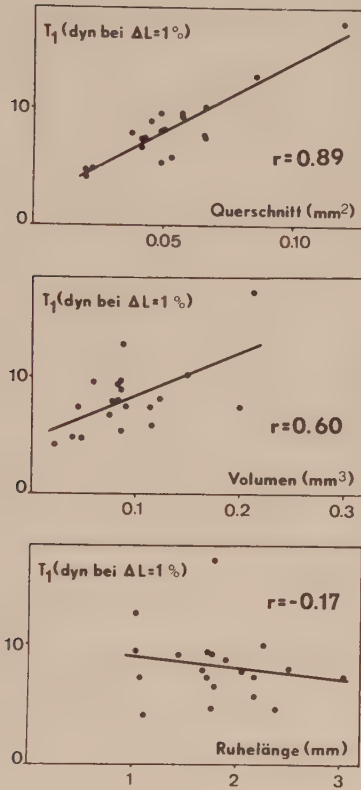


Abb. 19: Beziehung zwischen Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs (T_1) und den Dimensionen des Präparates. Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs wurde bei einer Dehnung um 1 % der Ruhelänge und bei vollständiger Aktivierung der Präparate; d. h. bei hoher Konzentration an freien Calciumionen bestimmt.

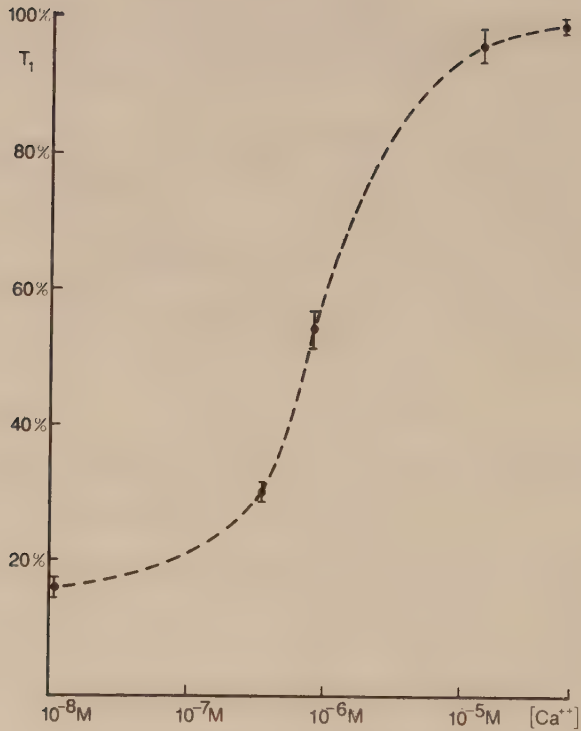


Abb. 2a: Konzentrations- Wirkungs- Kurve der Calciumionen-
konzentration (Abszisse; logarithmische Skala) auf die Ampli-
tude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs (Ordinate; der
Maximalwert wurde als 100 % genommen).

Normotone Ratten, 10 Wochen alt; $M \pm SEM$; $n = 8$.

sowie zwischen verschiedenen Altersstufen keine erkennbaren Unterschiede (Abb. 21).

Die Halbwirkkonzentration freier Calciumionen (EC_{50}) auf die Stiffness, d. h. die Konzentration, bei der die Hälfte der durch Veränderung der Ca^{++} -Konzentration erzielbaren Stiffness-Änderung erreicht wird, liegt für alle Gruppen im Bereich zwischen $pCa = 6.06$ und $pCa = 6.23$; es bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Ein Vergleich der Stiffness bei unterschiedlichen Calciumionenkonzentrationen ergibt dennoch deutliche Unterschiede zwischen NR und SHR. Bei niedrigen Ca^{++} -Konzentrationen zeigen Präparate von SHR höhere Stiffnesswerte als Präparate von NR (Abb. 22, 23; die Stiffnesswerte bei niedrigen Ca^{++} -Konzentrationen werden bezogen auf die maximale Stiffness bei hoher Ca^{++} -Konzentration, die als 100 % genommen wird). Die Stiffness in Abwesenheit von Calciumionen ($Ca^{++} \ll 10^{-8}$ M) ist bei SHR höher als bei NR. Diese Differenz ist für die Altersstufen 10 und 38 Wochen gemeinsam signifikant (NR: 15.7 ± 3.8 %, SHR: 20.6 ± 4.8 %, $M \pm SD$, $p < 0.005$). Dieser Unterschied zwischen NR und SHR ist über alle Altersstufen hinweg nachweisbar. Zwischen der Stiffness bei niedrigen Calciumionenkonzentrationen (Abb. 23) und dem Querschnitt der Präparate besteht keine Beziehung (Korrelationskoeffizient bei NR: $r = 0.06$; bei SHR: $r = -0.16$), so daß für einen Einfluß von den Präparatendimensionen abhängiger Faktoren wie etwa einer möglichen ATP-Verarmung im Zentrum dickerer Präparate als Ursache für die beobachteten Unterschiede kein Anhalt besteht.

2.2. Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs bei NR und SHR

Die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} dient als Maß für die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs (Abb. 14). Am Myokard normotoner Ratten nimmt τ^{-1} mit zunehmendem Alter der Tiere ab, d. h. bei Präparaten älterer Ratten ist

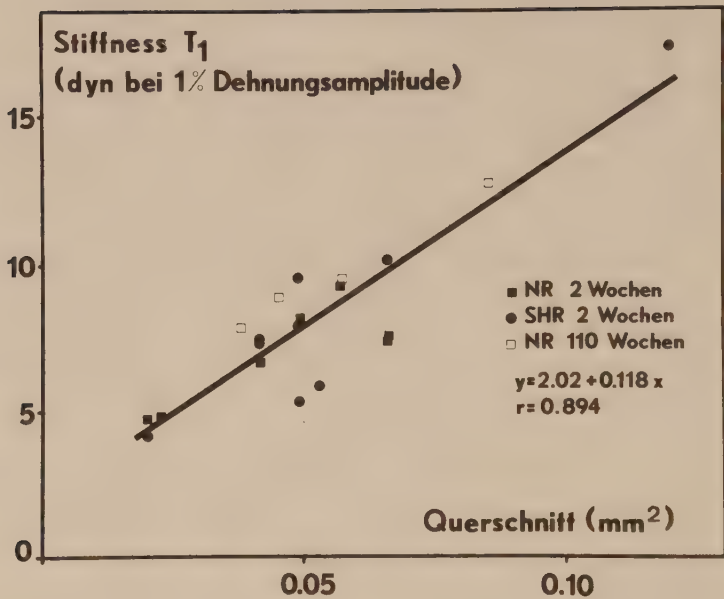


Abb. 21: Beziehung zwischen Stiffness T₁ und Querschnitt an glyzerinextrahierten Herzmuskelpräparaten normotoner und spontan hypertoner Ratten verschiedenen Alters (vgl. Abb. 19)

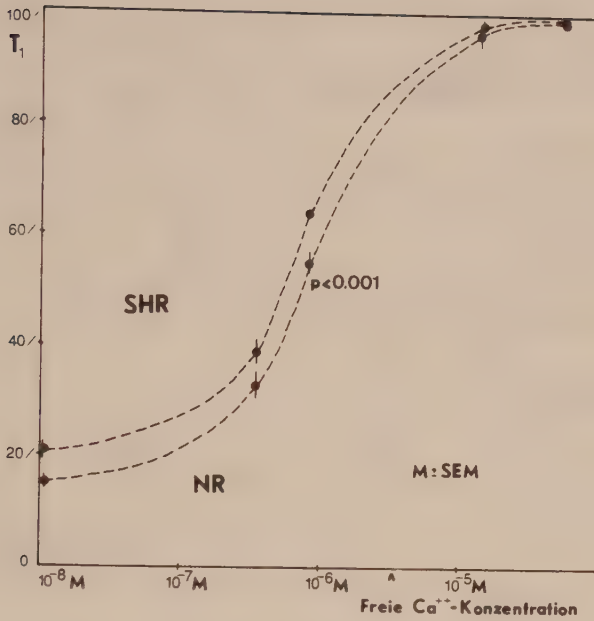


Abb. 22: Stiffness T_1 in Abhängigkeit von der Calciumionenkonzentration bei normotonen und spontan hypertonen Ratten. Der jeweilige Maximalwert wurde als 100 % genommen. Je 8 NR und SHR, Alter 38 Wochen. (Vgl. Abb. 20.)

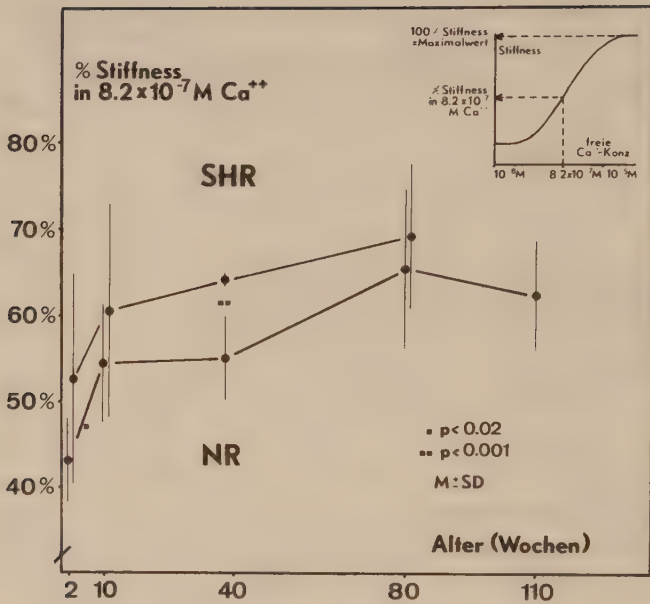


Abb. 23: Stiffness von Herzmuskelpräparaten bei einer Calciumionenkonzentration von $8.2 \times 10^{-7} \text{ M}$, ausgedrückt in Prozent der maximalen Stiffness (vgl. Inset) bei normotonen und spontan hypertonen Ratten in Abhängigkeit vom Alter.

der verzögerte dehnungsreaktive Kraftanstieg langsamer. Dieser Unterschied ist am ausgeprägtesten zwischen den Altersgruppen von 2 und 10 Wochen, danach nimmt die Geschwindigkeitskonstante über das gesamte untersuchte Altersspektrum (bis 110 Wochen) kontinuierlich ab.

Die Geschwindigkeitskonstante ist bei Präparaten spontan hypertoner Ratten gegenüber Präparaten gleichaltriger normotoner Ratten signifikant niedriger, d. h. der verzögerte dehnungsreaktive Kraftanstieg ist bei Präparaten von SHR langsamer. Dieser Unterschied ist über alle Altersstufen hinweg nachzuweisen, er besteht bereits im prähypertensiven Alter von 2 Wochen.

Der Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten mit dem Alter der Tiere ist bei SHR parallel zu dem Verlauf bei NR.

Wird die Geschwindigkeitskonstante t^{-1} in Beziehung gesetzt zu der bei den verschiedenen Gruppen unterschiedlichen Herz-Körpergewichtsrelation (Abb. 25), so ergibt sich zwischen diesen beiden Parametern keine eindeutige Beziehung.

Wird jedoch die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten vom Herzgewicht betrachtet (Abb. 26), so ergibt sich eine deutliche Korrelation zwischen beiden Parametern sowohl bei NR als auch bei SHR: mit zunehmendem Herzgewicht nimmt t^{-1} ab. Dabei ergeben sich für NR und SHR zwei unterschiedliche Korrelationsgeraden, d. h. die Beziehung zwischen Herzgewicht und t^{-1} besteht nur innerhalb der Kollektive der normotonen bzw. spontan hypertonen Ratten, nicht aber für beide Gruppen gemeinsam.

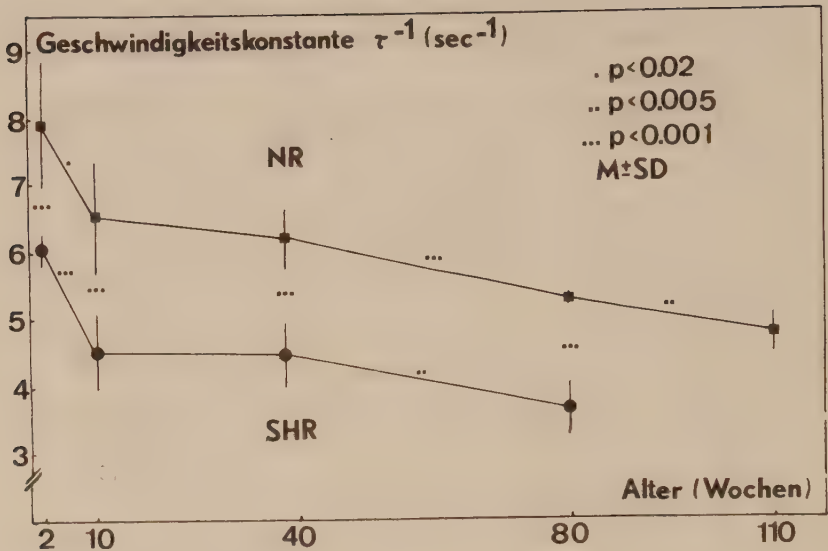


Abb. 24: Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} als Maß für die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs (vgl. Abb. 14).

Glyzerinextrahierte Herzmuskelpräparate normotoner und spontan hypertoner Ratten verschiedenen Alters.

Freie Ca^{++} -Konzentration im Inkubationsmedium 1.4×10^{-5} M.

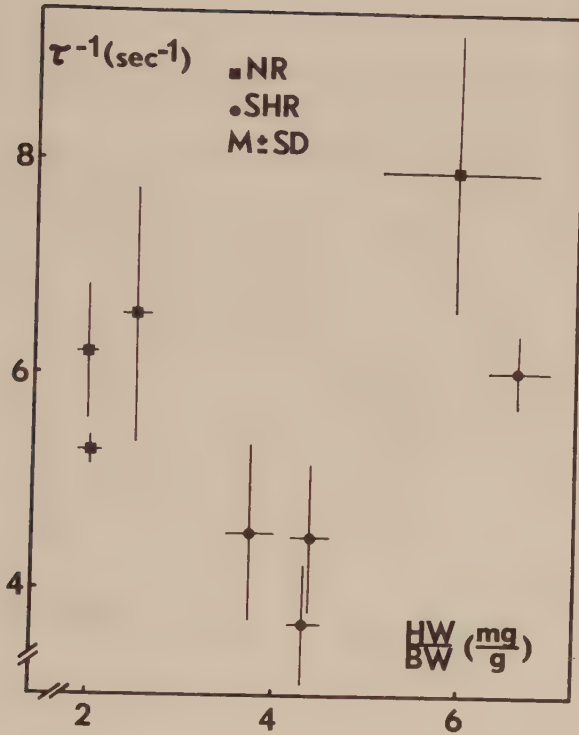


Abb. 25: Beziehung zwischen der Herz- Körpergewichtsrelation (HW/BW) und der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} . Aufgetragen sind Mittelwerte und Standardabweichungen der verschiedenen Altersgruppen (2, 10, 38, 80 Wochen) normotoner und spontan hypertoner Ratten.

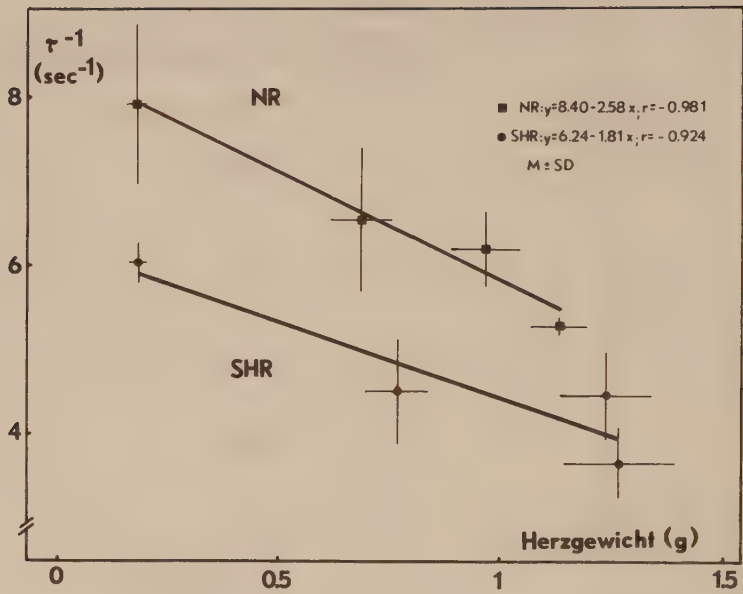


Abb. 26: Beziehung zwischen dem Herzgewicht und der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} am Herzen normotoner und spontan hypertoner Ratten.

D. DISKUSSION

1. MUSKELDEHNUNGSVERSUCHE

1.1. Vorgänge während des dehnungssynchronen Kraftanstiegs

Die Analyse der Längen- Kraft- Beziehung während der schnellen Längenänderung eines Muskelfaserpräparates läßt Rückschlüsse zu auf Vorgänge, die sich während dieser schnellen Längenänderung am kontraktile Protein abspielen. Mechanisch betrachtet entspricht der während des Dehnungsvorganges bestimmte Differentialquotient der Kraft nach der Länge dem elastischen Modulus der Muskelfaser (68). Dieser elastische Modulus ist ein Maß für die Anzahl in jedem Augenblick angehefteter und damit gedehnter Querbrücken; dabei wird die Gültigkeit des Hooke'schen Gesetzes vorausgesetzt (51, 199). Die Steilheit des Kraftverlaufs im Längen- Kraft- Diagramm repräsentiert direkt den Differentialquotienten der Kraft nach der Länge. Dieser ist während des (bei der vorliegenden Versuchsanordnung 3 Millisekunden dauernden) Dehnungsvorganges annähernd konstant, er nimmt kontinuierlich, wenn auch geringfügig ab (Abb. 15). Daraus läßt sich folgern, daß die Anzahl der am Actin angehefteten Myosinquerbrücken während des Dehnungsvorganges annähernd konstant ist; die geringe Abnahme des elastischen Modulus ist wohl darauf zurückzuführen, daß die auf die schnelle Längenänderung folgenden und zu einem Abfall der im Präparat herrschenden Kraft führenden Vorgänge (eine Konformationsänderung und Ablösung von Querbrücken) bereits während des Dehnungsvorganges beginnen und damit vor Abschluß des Dehnungsvorganges bereits ein geringer Anteil der zu Beginn der Dehnung angehefteten Querbrücken nicht mehr für die Krafterzeugung zur Verfügung steht. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs um so höher ist, je schneller die Dehnung ist (52, 201), da sich während eines längerdauernden Dehnungsvorganges mehr Querbrücken ablösen können ("Truncation") als während eines kurzdauernden.

Aus der Synchronizität von Längen- und Kraftänderung folgt darüber hinaus, daß die Compliance der Herzmuskelfasern linear ist und fast ungedämpft, d. h. daß neben dem elastischen kein oder nur ein geringes visköses Element den Kraftverlauf bestimmt (52).

Diese Aussagen gelten für den Herzmuskel. Am Skelettmuskel fanden Güth und Kuhn (68) ein davon abweichendes Verhalten; das Verhalten des Insektenflugmuskels ähnelt weitgehend dem beschriebenen Verhalten des Herzmuskels (69).

Bei hohen Dehnungsamplituden ändern sich die Verhältnisse (Abb. 17). Die beobachtete Längen- Kraft- Beziehung bei hohen Dehnungsamplituden läßt sich erklären durch die Annahme, daß bei diesen Dehnungsamplituden Querbrücken mechanisch vom dünnen Filament abgerissen werden.

Die Analyse der Längen- Kraft- Beziehung während schneller Dehnung erlaubt eine quantitative Aussage über den Bewegungsumfang der einzelnen Myosinquerbrücke: Genaue Betrachtung von Abb. 17 zeigt, daß bis zu einer Dehnungsamplitude von ca. 1.2 % der Ruhelänge die annähernde Proportionalität zwischen Längen- und Kraftänderung gewahrt ist, d. h. bis zu dieser Dehnungsamplitude werden keine Querbrücken mechanisch vom Actin abgerissen. 1.2 % der Ruhelänge entsprechen bei einer Sarkomerlänge von 2 bis 2.3 μm (62, 92), d. h. 1 bis 1.15 μm pro Halbsarkomer, einer Dehnung der einzelnen Querbrücke um 12 bis 14 nm = d. h. eine Querbrücke kann um 12 bis 14 nm gedehnt werden, ohne vom Actin abgelöst zu werden. Dies stimmt überein mit den Berechnungen über den Bewegungsumfang einer Querbrücke von Pybus und Tregear (191) sowie von Podolsky und Nolan (180; siehe S. 8)

Der Abszissenschnittpunkt der Beziehung zwischen Dehnungsamplitude und im Präparat herrschender Kraft (Abb. 18) entspricht nach Huxley der Entdehnungsamplitude, die nötig ist, um die Kraft der einzelnen Querbrücke auf Null zu reduzieren und damit der maximalen Amplitude der Querbrückenbewegung. In Abb. 18 liegt dieser Abszissenschnittpunkt bei -1.6 %. Dieser Wert wird jedoch wegen der "Truncation" überschätzt,

so daß eine gute Übereinstimmung mit dem obigen Wert von 1.2 % besteht.

Die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs ist der Amplitude der Längenänderung proportional. Extrapolation der Beziehung zwischen Dehungsamplitude und im Präparat herrschender Kraft bis zur Kraft Null ergibt in jedem Fall den gleichen Schnittpunkt mit der Abszisse (Abb. 18), d. h. die im Präparat aktiv entwickelte Kraft ist der Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs proportional. Dies ist zu erwarten, wenn die Ursache des dehnungssynchronen Kraftanstiegs eine von außen erzwungene Dehnung des gleichen elastischen Elements der Querbrücke ist, das bei der aktiven Kraftentwicklung durch eine vom Querbrückenkopf ausgehende Bewegung gedehnt wird.

Der parallele Verlauf von Kraft und Stiffness, der am Herzmuskel nach Herzig (80, 81) auch während des gesamten dehnungsreaktiven Kraftverlaufs gegeben ist, bedeutet, daß die durchschnittliche Distortion der angehefteten Querbrücken eine Konstante ist. Die Stiffness ist ein Maß für die Compliance des im Augenblick der Dehnung aktivierten kontraktile Systems, unter der Annahme einer konstanten Compliance der einzelnen Querbrücke somit ein Maß für die Anzahl im Augenblick der Dehnung angehefteter Querbrücken. Untersuchungen von Podolsky und Mitarbeitern (181) deuten allerdings darauf hin, daß die Compliance der einzelnen Querbrücke möglicherweise nicht unter allen Umständen eine Konstante darstellt.

1.2. Einfluß von Calciumionen auf die Amplitude des dehnungssynchronen Kraftanstiegs

Erhöhung der Konzentration freier Calciumionen führt zu einer Erhöhung der Stiffness (Abb. 20). Das ist darauf zurückzuführen, daß durch Ca^{++} Bindungsstelle am Actin für Querbrückenköpfe des Myosin freigegeben werden und dadurch die Anzahl am dünnen Filament angehefteter Querbrücken ansteigt.

Die am Herzmuskel von Schafen bzw. Frettchen gemessene intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration beträgt im Ruhezustand 1.9×10^{-7} M bzw. 1.4×10^{-7} M (28, 139; umgerechnet auf die in der vorliegenden Arbeit verwendete Stabilitätskonstante von Ca-EGTA). Bei diesen Ca^{++} -Konzentrationen ist der kontraktile Apparat des Herzmuskels nicht oder nur sehr gering aktiviert (Abb. 2o). Während der Kontraktion wurden am Herzmuskel intrazelluläre Ca^{++} -Konzentrationen zwischen 5.4×10^{-7} M und 5.4×10^{-6} M gemessen (139; umgerechnet auf die in der vorliegenden Arbeit verwendete Stabilitätskonstante von Ca-EGTA). Dies entspricht einer teilweisen, nicht einer vollständigen Aktivierung des kontraktilen Apparates bei der Kontraktion des Herzmuskels (Abb. 2o). Für die Annahme, daß bei der systolischen Kontraktion nicht die maximal mögliche Anzahl von Querbrücken aktiviert wird, sprechen auch Untersuchungen von Herzog, die zeigten, daß am intakten Papillarmuskel durch Substanzen, die die intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration erhöhen (Noradrenalin, Digitalisglykoside) eine weitere Erhöhung der Stiffness, d. h. der Anzahl angehefteter Querbrücken möglich ist (83).

Zu Beginn der Diastole wird Ca^{++} aus dem Zellinneren ins sarkoplasmatische Retikulum zurückgepumpt, der Anteil am Actinfilament angehefteter Querbrücken nimmt ab. Die bei glyzerinextrahierten Präparaten in Abwesenheit von Ca^{++} nachweisbare Stiffness ist zumindest teilweise auf Alterungsvorgänge im Präparat zurückzuführen: Infolge einer Oxydation von Sulfhydrylgruppen an kontraktile Proteinen (Troponin oder Myosin) ist auch in Abwesenheit von Ca^{++} ein Teil der Querbrücken angeheftet (31, 32, 111, 213). Diese Interpretation wird durch die Beobachtung gestützt, daß der dehnungssynchrone Kraftanstieg auch in Ca^{++} -freier Inkubationslösung ($\text{Ca}^{++} < 10^{-8}$ M) dem Hooke'schen Gesetz gehorcht (Abb. 13).

1.3. Strukturelle Aspekte des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs bei Herzmuskelpräparaten

Der Mechanismus der Dehnungsaktivierung an Herzmuskelpräparaten nach der Theorie von Steiger wurde bereits erwähnt (S. 18). Für die Annahme, daß durch die schnelle Längenänderung eine partielle Synchronisierung der aktiven (= ATP verbrauchenden) Querbrückenbewegung erzielt wird, sprechen folgende Beobachtungen:

- Während des dehnungsreaktiven Kraftanstiegs steigt die Stiffness des Präparates proportional zur Kraft an, woraus nach der Querbrückentheorie folgt, daß der Kraftanstieg auf eine Erhöhung der Anzahl angehefteter Querbrücken zurückzuführen ist (80, 81, 214, 217), wobei die Compliance der einzelnen Querbrücke als konstant vorausgesetzt wird.

- Die Tryptophan- Fluoreszenz als Indikator für die räumliche Orientierung der Myosinquerbrückenköpfe ändert parallel zum verzögerten Kraftanstieg ihre Richtung. Das deutet auf eine Bewegung von Myosinquerbrücken während des verzögerten Kraftanstiegs hin (216).

- Fortgesetzte Dehnung und Entdehnung eines Herzmuskelpräparates in ATP und Calciumionen enthaltender Inkubationslösung führt zu einer Erhöhung des ATP- Umsatzes in diesem Präparat, d. h. die mit der Längenänderung verbundenen Vorgänge sind mit einer Aktivierung des ATP verbrauchenden kontraktile Systems verbunden (214).

- Der durch eine Längenänderung ausgelöste Kraftanstieg zeigt andere Eigenschaften als der durch eine Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration verursachte; die Ca^{++} -Konzentration ist während des dehnungsreaktiven Kraftanstiegs konstant (2, 214); eine Bindung von Calciumionen an Proteine des kontraktile Systems infolge der Dehnung findet nicht statt (188).

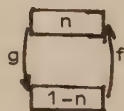
1.4. Zur Kinetik der Dehnungsaktivierung

Die Analyse des Längen- Kraft- Verlaufs an Muskelfaserpräparaten während und nach schnellen Längenänderungen ermöglicht Interpretationen der Vorgänge im kontraktilen System auf der Grundlage kinetischer Betrachtungen der Querbrückenbewegung. Bei dieser Betrachtungsweise wird die in jedem Augenblick herrschende Kraft betrachtet als Resultante der Ratenkonstanten der Übergänge zwischen verschiedenen Funktionszuständen der Querbrücken.

Im Folgenden soll zunächst das Zweizustandsmodell der Querbrückenbewegung von A. F. Huxley dargestellt werden. Dabei soll auf die Analyse des dehnungsreaktiven Kraftanstiegs durch Steiger und Abbot eingegangen werden, da diese Analyse Aussagen über die Bedeutung der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} zulässt, insbesondere darüber, welche Parameter der Querbrückenbewegung in die Geschwindigkeitskonstante eingehen. Dann soll versucht werden, die Gleichgewichtszustände vor und nach schneller Dehnung im Zweizustandsmodell zu interpretieren, um dadurch möglicherweise Aussagen über Determinanten der kinetischen Eigenschaften der Querbrücken zu erhalten. Schließlich soll auf ein erweitertes Modell der Querbrückenbewegung, das Vierzustandsmodell, eingegangen werden; dabei soll versucht werden, Eigenschaften der Querbrücken in Gleichgewichtszuständen mathematisch zu formulieren.

1.4.1. Das Zweizustandsmodell der Querbrückenbewegung (5, 86, 232

1957 formulierte A. F. Huxley (86) ein Querbrückenmodell der Muskelkontraktion. In diesem Modell können die Querbrücken zwei Zustände einnehmen: Den angehefteten und den abgelösten Zustand. Die Wahrscheinlichkeit (Ratenkonstante) für die Anheftung einer abgelösten Querbrücke wurde mit f , die Ratenkonstante für die Ablösung einer angehefteten Querbrücke mit g bezeichnet. n ist der



Anteil angehefteter, $(1-n)$ der Anteil abgelöster Querbrücken.
Damit ergibt sich

$$\frac{dn}{dt} = (1-n)f - ng \quad (86) \quad (1)$$

Im Gleichgewichtszustand (steady state), d. h. wenn $\frac{dn}{dt} = 0$,
läßt sich somit der Anteil angehefteter Querbrücken als Funktion
der Ratenkonstanten ausdrücken:

$$n = \frac{f}{f+g} \quad (2)$$

1.4.2. Interpretation des verzögerten Kraftanstiegs im Zwei- zustandsmodell

Nach Steiger und Abbot (5, 215) sind die Ratenkonstanten für
Anheftung (f) und Ablösung (g) von der Querbrückendistortion
(x) abhängig; deshalb führt die Dehnung einer Muskelfaser zu
einer Änderung der Ratenkonstanten. Die mathematische Darstellung,
die Abbot und Steiger (5) für die Vorgänge nach Längenänderung
einer Herzmuskelfaser gaben, sei auszugsweise wiedergegeben:

$g(0)$ sei die Ratenkonstante der Ablösung nicht gedehnter Quer-
brücken,

$f(x)$, $g(x)$ seien die Ratenkonstanten für Ablösung und Anheftung
um den Betrag x gedehnter Querbrücken,

$N(0,t)$ sei der Anteil ungedehnter angehefteter Querbrücken zum
Zeitpunkt t ,

$N(x,t)$ sei der Anteil um den Betrag x gedehnter Querbrücken
zum Zeitpunkt t .

Die Längenänderung wird zum Zeitpunkt $t=0$ durchgeführt. Alle
angehefteten Querbrücken werden um den Betrag x gedehnt, so
daß $N(x,0)$ gedehnte Querbrücken angeheftet sind und keine unge-
dehnten. Die gedehnten Querbrücken lösen sich mit einer Raten-
konstante $g(x)$ ab, so daß sich der Anteil angehefteter Quer-
brücken ergibt als

$$N(x,t) = N(x,0) \cdot e^{-g(x)t} \quad (3)$$

Der Anteil nicht angehefteter Querbrücken ist $(1 - N(o,t) - N(x,t))$. Die Geschwindigkeit der Änderung des Anteils angehefteter, nicht gedehnter Querbrücken ist

$$\frac{dN(o,t)}{dt} = f(x) \cdot [1 - N(o,t) - N(x,t)] - g(o) \cdot N(o,t) \quad (4)$$

Einsetzen von (3) in (4) und Multiplikation der Klammer ergibt

$$\begin{aligned} \frac{dN(o,t)}{dt} = & f(x) - N(x,o) \cdot f(x) \cdot e^{-g(x)t} - \\ & - [f(x) + g(o)] \cdot N(o,t) \end{aligned} \quad (5)$$

Eine Auflösung dieser Gleichung ergibt sich durch Multiplikation beider Seiten mit $e^{(f(x) + g(o))t}$:

$$\begin{aligned} N(o,t) = & N(o,\infty) - DN(x,o)e^{-g(x)t} + \\ & + [DN(x,o) - N(o,\infty)] \cdot e^{-(f(x) + g(o))t} \end{aligned} \quad (6)$$

$$\text{wobei } D = \frac{f(x)}{f(x) + g(o) - g(x)}.$$

Wird die Spannung in einer gedehnten Querbrücke als $s(x)$ mal die Spannung einer ungedehnten Querbrücke angesetzt, so ergibt sich die Gesamtspannung $T(t)$, bezogen auf die Spannung, wenn alle Querbrücken angeheftet, aber nicht gedehnt sind, als

$$T(t) = N(o,t) + s(x) \cdot N(x,t) \quad (7)$$

Einsetzen von (3) und (6) in (7) ergibt

$$\begin{aligned} T(t) = & N(o,\infty) - [N(o,\infty) - DN(x,o)] \cdot e^{-(f(x) + g(o))t} + \\ & + [s(x) - D] \cdot N(x,o) \cdot e^{-g(x)t} \end{aligned} \quad (8)$$

d. h. die Spannungsänderung in Abhängigkeit von der Zeit ergibt sich als die Summe zweier Exponentialfunktionen (Gleichungen (3) bis (8) aus 5).

Nach Abbot und Steiger (5) ist $g(x)$ die Geschwindigkeitskonstante des auf die Dehnung folgenden Abfalls, $f(x) + g(o)$ die Geschwindigkeitskonstante des verzögerten Wiederanstiegs der im Präparat herrschenden Kraft. Damit läßt sich die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} darstellen als die Summe von zwei Ratenkonstanten der Querbrückenbewegung, die damit die Determinanten des Zahlenwertes von τ^{-1} sind:

$$\tau^{-1} = f(x) + g(o) \quad (9).$$

Aussagen über das quantitative Verhältnis der beiden Summanden ergeben sich aus der experimentellen Beobachtung, daß τ^{-1} von der Amplitude der Längenänderung (x) weitgehend unabhängig ist (5, 215). Dies ist nach Gleichung (9) der Fall, wenn $f(x) \ll g(o)$. Auch aus der Tatsache, daß stets nur ein geringer Anteil aller Querbrücken angeheftet ist (96, 145, 191, 259) folgt nach Gleichung (2), daß $f \ll g$.

Wenn $f(x) \ll g(o)$, läßt sich (9) näherungsweise vereinfachen:

$$\tau^{-1} \approx g(o) \quad (10),$$

d. h. der Zahlenwert der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} wird wesentlich bestimmt durch die Ratenkonstante der Ablösung nicht gedehnter Querbrücken.

Falls die im Herzmuskel vertretenen verschiedenen Myosinisoenzyme (128, 225) verschiedene Ratenkonstanten besitzen, handelt es sich bei τ^{-1} um einen Mittelwert der Geschwindigkeitskonstanten der verschiedenen Myosinisoenzyme.

1.4.3. Gleichgewichtszustände am Herzmuskel. Interpretation im Zweizustandsmodell

Nach Dehnung eines Herzmuskelpreparates sinkt im Anschluß an den verzögerten Kraftanstieg die im Präparat herrschende Kraft wieder ab; sie erreicht jedoch nicht das Ausgangsniveau vor der Dehnung: Die in dem im Anschluß an die Dehnung erreichten Gleichgewichtszustand (steady state) im Präparat herrschende Kraft ist höher als der Ausgangswert im Gleichgewichtszustand vor der Dehnung. Saeki u. Mitarb. (201) beobachteten, daß das im Anschluß an eine Dehnung schließlich erreichte Kraftniveau von der Geschwindigkeit dieser Dehnung (untersucht im Bereich zwischen 2 und 480 msec) unabhängig ist - d. h. die schließlich erreichte Kraft ist nicht eine direkte Folge des Dehnungsvorganges, sondern wird von der erreichten Sarkomerlänge bestimmt.

Diese persistierende Krafterhöhung nach Dehnung ist in Ca^{++} -

freier Inkubationslösung nicht nachweisbar. Das läßt die Folgerung zu, daß eine evtl. vorhandene Parallelelastizität dieses Verhalten nicht zu erklären vermag, sondern daß Eigenschaften des kontraktilen Systems zur Erklärung herangezogen werden müssen.

Im Querbrückenmodell bedeutet dies, daß die Anzahl angehefteter Querbrücken nach der Dehnung höher ist als vor der Dehnung:

$$n(x, \infty) > n(0, 0) \quad (11).$$

Dies läßt sich erklären durch die Annahme, daß die Ratenkonstanten der Querbrückenbewegung durch die Dehnung nicht nur vorübergehend verändert werden (was Ursache des dehnungsreaktiven Abfalls und Wiederanstiegs der Kraft ist), sondern daß im Gleichgewichtszustand nach der Dehnung für die Ratenkonstanten andere Werte gelten als im Gleichgewichtszustand vor der Dehnung. Unter Verwendung von Gleichung (2) ergibt sich aus (11):

$$\frac{f(x, \infty)}{f(x, \infty) + g(x, \infty)} > \frac{f(0, 0)}{f(0, 0) + g(0, 0)} \quad (12).$$

Wenn die Ratenkonstanten der Querbrückenbewegung - wie postuliert - von der Sarkomerlänge abhängig sind, muß im kontraktilen System des Herzmuskels ein Mechanismus angenommen werden, der die Sarkomerlänge registriert und Eigenschaften des kontraktilen Apparates in Abhängigkeit von der Sarkomerlänge verändert. Am Insektenflugmuskel, der im Anschluß an eine Dehnung ein dem Herzmuskel vergleichbares Verhalten zeigt, wird als Sensor für die Sarkomerlänge eine Proteinstruktur, genannt C- Filament, angesehen, die sich vom dicken Filament zur Z- Linie erstreckt (187-189). Worauf das entsprechende Verhalten am Herzmuskel zurückzuführen ist, ist jedoch nicht bekannt. Eine dem C- Filament entsprechende Struktur ließ sich am Herzmuskel nicht finden.

1.4.4. Das Vierzustandsmodell der Querbrückenbewegung

Lymn und Taylor (135), Abbot (3) sowie Eisenberg und Hill (41) schlugen ein Vierzustandsmodell des Querbrückenzyklus

VIERZUSTANDSMODELL DES QUERBRÜCKENZYKLUS

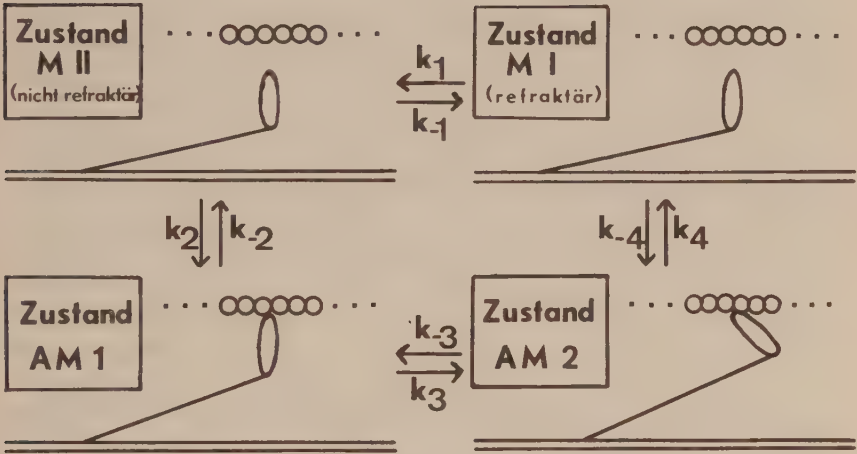


Abb. 27: Schema des Vierzustandsmodells des Querbrückenzyklus.
In Anlehnung an Eisenberg und Hill (41)

(Abb. 27) vor, das den tatsächlichen Vorgängen bei der Querbrückenbewegung in höherem Maße entsprechen soll als das Zweizustandsmodell.

Das Vierzustandsmodell nimmt zwei unterschiedliche abgelöste und zwei unterschiedliche angeheftete Zustände der Myosinquerbrücken bzw. des Actomyosinsystems an: Nach der Anlagerung und Spaltung von ATP befindet sich das nicht angeheftete Myosin-ADP-P_i-System zunächst in einem refraktären Zustand, d. h. eine Bindung der Querbrücke an Actin ist in diesem Zustand nicht möglich (Zustand MI) (39, 40, 54). Durch eine Konformationsänderung im Myosin-ADP-P_i-System kommt dieses in einen nicht refraktären Zustand (MII). Diese Konformationsänderung wird als der geschwindigkeitsbegrenzende Schritt des Querbrückenzyklus aufgefasst. Verbindet sich eine Querbrücke im Zustand MII mit dem Actinfilament, so heftet sie sich zunächst in einem rechten Winkel an das Actinfilament an (Zustand AM1). In diesem Zustand erzeugt sie keine Kraft. Die Konformationsänderung der angehefteten Querbrücke in den spitzwinklig angehefteten Zustand (AM2) ist der krafterzeugende Schritt. Nach ihrer Ablösung, der Abspaltung von ADP + P_i und der Anlagerung und Spaltung von ATP ist die Querbrücke wieder im Zustand MI.

Nur die im Zustand AM2 befindlichen Querbrücken erzeugen Kraft. Die aktiv entwickelte Kraft ist somit

$$T = k \cdot N_{AM2} \quad (13);$$

k ist die vom einzelnen elastischen Element entwickelte Kraft.

Zum quantitativen Verhältnis der in den Zuständen AM1 und AM2 befindlichen Querbrücken lassen sich folgende Aussagen machen:

- Die im Zustand AM2 angehefteten Querbrücken erzeugen Kraft. Bei schneller Dehnung tragen sie zur Stiffness bei. Die im Zustand AM1 angehefteten Querbrücken erzeugen keine Kraft, tragen jedoch bei schneller Dehnung ebenfalls zur Stiffness bei. Aus der Beobachtung daß das Verhältnis

$\frac{\text{Stiffness}}{\text{isometrisch entwickelte Kraft}}$ unter allen Bedingungen keine

erkennbaren Unterschiede aufweist (in Abb. 18 drückt sich dies durch einen stets gleichen Abszissenschnittpunkt der Beziehung zwischen Kraft und Dehnungsamplitude aus), folgt, daß das zahlenmäßige Verhältnis der beiden Zustände (N_{AM1} / N_{AM2}) stets annähernd gleich ist.

- Elektronenmikroskopische Untersuchungen (192) zeigten, daß sich die Querbrücken im aktiven Zustand des Muskels größtenteils im spitzwinklig angehefteten Zustand befinden, d. h. $N_{AM1} \ll N_{AM2}$. Der Übergang von AM1 in AM2 muß also schnell erfolgen, die Querbrücken sind nur kurze Zeit im Zustand AM1. Dies ist aus energetischen Gründen vorteilhaft: Je kürzer sich eine Querbrücke während einer Kontraktion des Sarkomers im Zustand AM1 befindet, um so höher ist der Wirkungsgrad der ATP-Spaltung (41).

Beschreibung der Gleichgewichtszustände (steady states)

Die Ratenkonstanten der Übergänge zwischen den vier Querbrückenzuständen werden mit k_1, k_2, k_3, k_4 bezeichnet, die Ratenkonstanten der Rückreaktionen mit $k_{-1}, k_{-2}, k_{-3}, k_{-4}$, wie in Abb. 27 angegeben. Es wird angenommen, daß unter physiologischen Bedingungen die Ratenkonstanten der Rückreaktionen vernachlässigbar klein sind, also $k_1 \gg k_{-1}, k_2 \gg k_{-2}, k_3 \gg k_{-3}, k_4 \gg k_{-4}$. Unter dieser Voraussetzung gilt im Gleichgewichtszustand:

$$\frac{dN_{MI}}{dt} = N_{AM2} \cdot k_4 - N_{MI} \cdot k_1 = 0 \quad (14)$$

$$\frac{dN_{MII}}{dt} = N_{MI} \cdot k_1 - N_{MII} \cdot k_2 = 0 \quad (15)$$

$$\frac{dN_{AM1}}{dt} = N_{MII} \cdot k_2 - N_{AM1} \cdot k_3 = 0 \quad (16)$$

$$\frac{dN_{AM2}}{dt} = N_{AM1} \cdot k_3 - N_{AM2} \cdot k_4 = 0 \quad (17).$$

Außerdem gilt unter der Annahme, daß der Anteil von Querbrücken, die sich in Übergangszuständen zwischen den vier bezeichneten Zuständen befinden, quantitativ zu vernachlässigen ist:

$$N_{MI} + N_{MII} + N_{AM1} + N_{AM2} = 1 \quad (18).$$

Aus (14) bis (18) errechnet sich der Anteil im krafterzeugenden Zustand befindlicher Querbrücken als Funktion der Ratenkonstanten als

$$N_{AM2} = \frac{1}{1 + \frac{k_4}{k_1} + \frac{k_4}{k_2} + \frac{k_4}{k_3}} \quad (19).$$

In dieser Terminologie ist Gleichung (11) zu formulieren als

$$N_{AM2}(x, \infty) > N_{AM2}(0, 0) \quad (20).$$

Für die Ratenkonstanten am Herzmuskel vor und nach der Dehnung gilt also

$$\frac{1}{1 + \frac{k_4(x, \infty)}{k_1(x, \infty)} + \frac{k_4(x, \infty)}{k_2(x, \infty)} + \frac{k_4(x, \infty)}{k_3(x, \infty)}} > \frac{1}{1 + \frac{k_4(0, 0)}{k_1(0, 0)} + \frac{k_4(0, 0)}{k_2(0, 0)} + \frac{k_4(0, 0)}{k_3(0, 0)}}$$

oder

$$\frac{k_4(x, \infty)}{k_1(x, \infty)} + \frac{k_4(x, \infty)}{k_2(x, \infty)} + \frac{k_4(x, \infty)}{k_3(x, \infty)} < \frac{k_4(0, 0)}{k_1(0, 0)} + \frac{k_4(0, 0)}{k_2(0, 0)} + \frac{k_4(0, 0)}{k_3(0, 0)} \quad (21).$$

Bei diesen mathematischen Beschreibungen wurde vereinfachend angenommen, daß - zumindest in den Gleichgewichtszuständen vor und nach der Längenänderung - die Rate der Rückreaktionen (k_{-1} , k_{-2} , k_{-3} , k_{-4}) vernachlässigbar klein sei. Ob diese Vereinfachung gerechtfertigt ist, ist fraglich, da verschiedene Beobachtungen (136, 258) darauf hindeuten, daß zumindest die biochemischen Vorgänge bei der Muskelkontraktion im Prinzip reversibel sind. Bezüglich der mechanischen Vorgänge ist diese Frage umstritten (61, 209).

Darüber hinaus gelten die angegebenen Gleichungen nur, wenn die Elastizität der einzelnen angehefteten Querbrücke in den Gleichgewichtszuständen vor und nach der Längenänderung gleich ist. Theoretisch besteht auch die Möglichkeit, daß die Compliance der einzelnen angehefteten Querbrücke von der Sarkomerlänge abhängig ist und daß eine Verminderung dieser Compliance im Gleichgewichtszustand nach der Dehnung dazu führt, daß in diesem Zustand die Kraft höher ist als im Gleichgewichtszustand vor der Dehnung (Vgl. 181).

1.5. Mögliche physiologische Bedeutung der Dehnungsaktivierung am Herzmuskel

Nach Berechnungen von Steiger beträgt die Arbeitsleistung, die von einem Herzmuskelpräparat durch Dehnungsaktivierung vollbracht werden kann, bezogen auf das Herzgewicht, bis zu einem Drittel der Arbeitsleistung des Herzmuskels während eines normalen Herzschlages (214, 217). Die Geschwindigkeit des verzögerten Kraftanstiegs von Herzmuskelpräparaten verschiedener Tierspezies korreliert eng mit der Herzschlagfrequenz dieser Tierspezies: Je höher die Herzfrequenz, um so schneller ist der verzögerte Kraftanstieg nach einer Dehnung (76, 213, 214, 217). Diese Beobachtungen lassen die Frage aufkommen, ob dem Phänomen der Dehnungsaktivierung eine physiologische Bedeutung während des Kontraktionszyklus am Herzen zukommt.

Am Herzmuskelpräparat kehrt die Kraft im Anschluß an eine schnelle Dehnung nicht auf das Ausgangsniveau zurück. Daraus wurde gefolgert, daß am Herzmuskel eine Beziehung zwischen Sarkomerlänge und Kraft besteht, da die Ratenkonstanten der Querbrücken von der Sarkomerlänge abhängig sind. Dies könnte eine Rolle spielen bei der Dehnungs- Spannungsbeziehung am Herzmuskel (mit steigender Sarkomerlänge = Dehnung steigt die Spannung im Herzmuskelpräparat) sowie möglicherweise beim Frank-Starling- Mechanismus (189).

Eine Regulation des Ruhetonus des Herzens im Sinne des von Wezler postulierten "diastolischen Herztonus" (249) läßt sich daraus jedoch nicht zwingend ableiten (vgl. 214).

Eine weitere mögliche Bedeutung des dehnungsinduzierten Kraftanstiegs in Herzmuskelfasern besteht darin, eine Überdehnung von Einzelsarkomeren zu Beginn der Systole zu verhindern (80), wenn während der isovolumetrischen Anspannungsphase des Herzens nicht streng synchrone Kontraktionen in einzelnen Bezirken des Myokards zu Differenzen in der Länge verschiedener Einzelsarkomere führen (182).

2. ALTERSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN AM HERZEN

Am Herzmuskel normotoner Ratten nimmt die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} als Maß für die Rotationsgeschwindigkeit der Querbrücken mit zunehmendem Alter der Tiere kontinuierlich ab (Abb. 24). Dies könnte eine Erklärung bieten für die Beobachtung, daß an intakten Herzmuskelpräparaten die Zeit bis zur maximalen Spannungsentwicklung (time to peak tension) bei gealterten Ratten (24 - 30 Monate), verglichen mit jüngeren Tieren (6 - 12 Monate) verlängert ist (56, 119, 247). Ein Zusammenhang zwischen Querbrückenrotationsgeschwindigkeit und Zeit bis zur maximalen Spannungsentwicklung am intakten Herzmuskelpräparat ist wahrscheinlich, weil der Calciumeinstrom ins Innere der Herzmuskelzelle schneller ist als die Spannungsentwicklung (8, 9, 139, 254), d. h. nicht der Ca^{++} -Einstrom ins Zellinnere, sondern die Aktivierung der kontraktilen Proteine stellt den geschwindigkeitsbegrenzenden Schritt der Kontraktion dar.

3. UNTERSCHIEDE ZWISCHEN NORMOTONEN UND SPONTAN HYPERTONEN RATTEN

3.1. Stiffness bei verschiedenen Calciumionen- Konzentrationen

Die maximal erreichbare Stiffness pro Querschnitt als Maß für die maximal aktivierbare Anzahl kontraktiler Elemente

zeigt bei Herzmuskelpräparaten der verschiedenen untersuchten Kollektive keine erkennbaren Unterschiede (Abb. 21). Bei niedriger Calciumionenkonzentration ist jedoch die Stiffness bei Präparaten von SHR höher als bei Präparaten von NR, d. h. bei niedriger Ca^{++} -Konzentration ist bei Herzmuskelpräparaten spontan hypertoner Ratten ein höherer Anteil der Querbrücken angeheftet.

Dies steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Fujiwara u. Mitarb. (58), die an intakten Vorhöfen von 3 Monate alten SHR verglichen mit NR eine höhere spontan entwickelte Kontraktionskraft in Ringerlösung und eine verminderte Wirkung von Noradrenalin- und Isoproterenolzugabe auf die entwickelte Kraft fanden, wobei die minimale (Schwellenkonzentration) und maximal wirksame Konzentration bei SHR und NR gleich waren. Da Noradrenalin und Isoproterenol ihre positiv inotrope Wirkung entfalten, indem sie die intrazelluläre Calciumionenkonzentration erhöhen, kann die spontan entwickelte Kraft als Kraft bei niedriger Ca^{++} -Konzentration, die Kraft nach Noradrenalin- oder Isoproterenolzugabe als Kraft bei höherer Ca^{++} -Konzentration aufgefasst werden.

Der bei SHR höhere Anteil aktivierter Querbrücken bei niedriger Ca^{++} -Konzentration steht auch in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Aoki u. Mitarb. (12, 13), die bei SHR eine verminderte Ca^{++} -Stimulierbarkeit der Myofibrillen-ATPase bei erhöhter Grundaktivität fanden. Untersuchungen von Reiermann u. Mitarb. (193) zeigten einen parallelen Verlauf von ATPase-Aktivität und isometrischer Spannung in Abhängigkeit von der Ca^{++} -Konzentration an glyzerinbehandelten Herzmuskelpräparaten, so daß die bei SHR höhere Stiffness bei niedriger Ca^{++} -Konzentration und ihre geringere Steigerbarkeit durch Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration als mechanisches Äquivalent der Befunde von Aoki u. Mitarb. aufgefasst werden kann. Ähnliche, wenn auch statistisch nicht signifikante mechanische Veränderungen fanden Maughan u. Mitarb. (141) bei der rechtsventrikulären Hypertrophie infolge Pulmonalarterienkonstriktion am Kanninchen. Die Bindegewebskonzentration im Herzmuskel, gemessen als myokardiale Konzentration von Hydroxyprolin, ist bei NR und SHR

gleichen Alters gleich und bietet damit keine Erklärung für die beobachteten Unterschiede (206a).

Nicht auszuschließen ist freilich, daß es sich bei den dargestellten Ergebnissen über die Ca^{++} - Abhängigkeit der Stiffness um ein Artefakt handelt, da bei SHR die Aktivität proteingebundener Proteaseenzyme höher ist als bei NR (G. Mayr, pers. Mitteilg.). Damit ist denkbar, daß bei SHR ein höherer Anteil von Myosinquerbrücken oder von Actinbindungsstellen oder von Regulatorproteinen durch Proteasen dahingehend verändert ist, daß in Abwesenheit von Ca^{++} eine Ablösung der Querbrücken nicht mehr möglich ist.

3.2. Geschwindigkeitskonstante τ^{-1}

Die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} als Maß für die Rotationsgeschwindigkeit der Querbrücken ist in allen untersuchten Altersstufen, von 2 bis 80 Wochen, bei Herzmuskelpräparaten spontan hypertoner Ratten signifikant niedriger als bei Präparaten normotoner Kontrolltiere (Abb. 24). Dieser Unterschied kann entweder eine Folge des Hochdrucks oder der hochdruckbedingten Hypertrophie sein, oder auf einer genetischen Ursache beruhen. Erstere Annahme kann das Verhalten der Geschwindigkeitskonstanten nicht erklären, da im Alter von 2 Wochen zwischen NR und SHR kein Unterschied im Blutdruck besteht (Abb. 1; 118), die Geschwindigkeitskonstante jedoch bereits in dieser Altersstufe signifikant erniedrigt ist, und zwar quantitativ im gleichen Ausmaß wie in den höheren Altersstufen. Aus diesem Grund ist als Ursache der erniedrigten Geschwindigkeitskonstanten bei SHR eine genetisch bedingte Veränderung zu postulieren, die zu einer Verlangsamung der Rotationsgeschwindigkeit am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten führt.

Für eine genetisch bedingte Veränderung am kontraktilem Apparat von SHR sprechen auch Ergebnisse von Mayr u. Mitarb. (142), die zwischen NR und SHR, untersucht ab dem Alter von 10 Wochen, Unterschiede in der in Ca^{++} - freiem Milieu gemessenen

Myosin- ATPase- Aktivität (EDTA- ATPase) fanden, die nicht plausibel als Hochdruck- oder Hypertrophiefolge zu erklären sind.

3.3. Genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten?

Die genetisch bedingte Verringerung der Querbrückenrotationsgeschwindigkeit am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten, verglichen mit normotonen Kontrolltieren, die im vorangegangenen Abschnitt postuliert wurde, kommt einer durch Veränderungen der kontraktilen Proteine bedingten primären Cardiomyopathie bei SHR gleich.

Für diese Annahme sprechen auch einige weitere Beobachtungen:

- Das Herzgewicht sowie die Quotienten aus Herzgewicht bzw. linksventrikulärem Gewicht bzw. rechtsventrikulärem Gewicht und Körpergewicht als Indikatoren für das Ausmaß der Herzhypertrophie sind bei SHR verglichen mit NR bereits erhöht, bevor der Hochdruck auftritt, und zwar ab dem 1. Lebenstag (15, 30, 71a, 208, 248, 261). Elektrokardiographisch lassen sich bereits bei prähypertensiven (4 Wochen alten) SHR hypertrophietypische Veränderungen nachweisen (264).

- Der RNA- Gehalt des Herzens als Maß für die Proteinsynthese, d. h. Hypertrophieentwicklung ist bei SHR ab dem 1. Lebenstag und weiter während des gesamten späteren Verlaufs erhöht (15).

- Das Volumen der Myofibrillen des rechten Ventrikels ist bei 5 Wochen alten (prähypertensiven) SHR verglichen mit NR vergrößert (98). Dies weist darauf hin, daß die Herzhypertrophie bei SHR beide Ventrikel betrifft und nicht allein durch die Druckbelastung determiniert wird.

- Behandlung der Versuchstiere während der ersten Lebenswoche mit nerve growth factor antiserum (NGFAS) führt zu einer immunologisch bedingten peripheren Sympathektomie. Durch diese Behandlung wird die Entwicklung des Hochdrucks bei SHR verhindert, während der Blutdruck von NR nicht beeinflusst wird. Trotzdem entwickelt sich bei SHR eine linksventrikuläre Hypertrophie. Inotropieparameter des linken Ventrikels (maximale Strömungsgeschwindigkeit, deren Ableitung nach der Zeit und Schlagarbeit) werden durch NGFAS- Behandlung bei SHR stärker herabgesetzt als bei NR (29, 30, 164, 165).

- Zentrale Applikation von 6-Hydroxydopamin in die Gehirnventrikel verhindert die Entwicklung des Hochdrucks, nicht aber der Hypertrophie bei SHR, während beide Parameter bei NR nicht beeinflusst werden (165).

- Bilaterale Entfernung des Nebennierenmarkes bei 8 Wochen alten SHR mit oder ohne zusätzliche Gabe von 6-Hydroxydopamin führt zu einer Erniedrigung des Blutdrucks, beeinflusst die weitere Hypertrophieentwicklung jedoch nicht. Bei NR bleiben beide Größen unbeeinflusst (233).

3.4. Möglichkeit eines erhöhten Sympathicus- Tonus bei spontan hypertonen Ratten

Die Beobachtung einer im kompensierten Stadium annähernd normalen linksventrikulären Funktion bei spontan hypertonen Ratten führt im Zusammenhang mit den oben postulierten Veränderungen des Herzens im Sinne einer Cardiomyopathie zu der Frage, ob das sympathische Nervensystem bei der Aufrechterhaltung einer annähernd normalen Ventrikelfunktion und möglicherweise bei der Pathogenese der Veränderungen bei SHR, insbesondere des Hochdrucks, eine Rolle spielt. Im Folgenden sollen Ergebnisse aus der Literatur zu dieser Frage kurz zusammengefasst werden.

1. Konzentration von Katecholaminen und katecholaminsynthetisierenden Enzymen im Blut. Bei SHR ist im Alter von 4 Wochen (63, 64), 5 und 7 Wochen (167), 3 und 7 Wochen (154), 8 - 12 und 24 Wochen (110) die Plasmakonzentration von Katecholaminen, insbesondere Noradrenalin erhöht. Messungen im Alter von 12 Wochen (154) bzw. 20 und 40 Wochen (152) ergaben nicht signifikant erhöhte Werte.

Nagatsu u. Mitarb. (149) und Grobecker (63, 64) fanden bei SHR im Alter von 3 und 16 bzw. 4 Wochen eine erhöhte Aktivität noradrenalin-synthetisierender Enzyme (Dopamin- β -Hydroxylase und Tyrosin-Hydroxylase) im Blut, die sie auf eine erhöhte Aktivität sympathischer Nervenendigungen am Gefäßsystem zurückführten. Nakamura und Nakamura (152) fanden eine solche Erhöhung im Alter von 5 Wochen, die Werte bei 20 und 40 Wochen alten SHR unterschieden sich nicht von denen gleichaltriger NR.

2. Noradrenalinumsatz und -gehalt des Herzens. Die Ergebnisse zu diesem Punkt sind widersprüchlich: Einige Autoren (195, 260-263) fanden bei 4 - 8 bzw. 6 Wochen alten SHR einen erhöhten Noradrenalinumsatz des Herzens, im Alter von 15 Wochen war die Erhöhung statistisch nicht signifikant; andere Autoren beschrieben im Alter von 11 - 14 bzw. 9 und 15 Wochen einen verminderten Noradrenalinumsatz (130-132, 240).

Ueba (238) fand im Alter von 3 Wochen einen normalen, bei 6 - 8 Wochen einen erniedrigten Noradrenalingehalt des Herzens spontan hypertoner Ratten. Erniedrigte Werte fanden auch Nakamura u. Mitarb. (151) bei 12 Wochen und Vetadžokosa u. Mitarb.

(240) bei 9 bzw. 15 Wochen alten SHR, dagegen fand Louis (130-132) bei 11 - 14 Wochen alten Tieren einen normalen Noradrenalinegehalt.

Die Zahl der Betarezeptoren am Herzen ist nach Limas (127) gegenüber NR vermindert, nach McAllister u. Mitarb. (143) normal, nach Frieswick und Shideman (55) im prähypertensiven Stadium erhöht, ab 10 Wochen normal.

3. Veränderungen am Nebennierenmark. Nach histologischen Untersuchungen von Tabei (227, 228) ist die von noradrenalin-speichernden Zellen im Nebennierenmark eingenommene Fläche bei spontan hypertonen Ratten (7 - 75 Wochen alt) annähernd doppelt so groß wie bei altersentsprechenden normotonen Ratten. Die noradrenalin-speichernden Granula und Vesikel sind bei Nebennierenmarkszellen von SHR vermehrt. Der Noradrenalinegehalt des Nebennierenmarks von SHR ist im Alter von 8 - 20 Wochen (163) bzw. 12 und 24 Wochen (110) bzw. 4 Monaten und darüber (166) erhöht.

Die Aktivität noradrenalin-synthetisierender Enzyme (Dopamin- β -Hydroxylase, Tyrosin-Hydroxylase) im Nebennierenmark von SHR ist am Alter von 3 Wochen leicht, stärker im Alter von 16 Wochen erhöht. Diese beiden Enzyme hemmende Substanzen (Fusarsäure bzw. Oudanon) haben bei SHR eine stärker blutdrucksenkende Wirkung als bei NR (149).

4. Veränderungen am peripheren sympathischen Nervensystem. Die Aktivität (Entladungsrate) des sympathischen N. splanchnicus ist bei SHR, untersucht im Alter von 3 bzw. 4 Monaten, höher als bei NR (99, 101, 159, 162). Judy u. Mitarb. (107) fanden in verschiedenen Gebieten (Ggl. cervicale, Splanchnicusgebiet, Nn. renales) im Alter zwischen 16 und 40 Wochen eine bei SHR erhöhte sympathische Nervenaktivität, die eng mit dem arteriellen Mitteldruck korrelierte.

Das sympathische Ganglion cervicale sup. ist bei spontan hypertonen Ratten schwerer als bei NR. Ganglienvolumen, Kerngröße und Zellgröße sind bei SHR, untersucht im Alter zwischen 7 Wochen und über 1 Jahr, erhöht (140).

5. Pharmakologische Beeinflussung des sympathischen Nervensystems. Iriuchijima (99, 100) sowie Judy u. Mitarb. (106, 107) konnten durch Hexamethonium (30 mg/kg i.v. bzw. 20 mg/kg i.v.) den Blutdruck spontan hypertoner und normotoner Ratten (Alter 16 - 50 bzw. 28 Wochen) auf gleiche Werte senken. Herzfrequenz und peripherer Widerstand sanken bei SHR und NR auf gleiche Werte (99, 100). Die sympathische Nervenaktivität lag dabei unter der Nachweisgrenze (106). Numao u. Mitarb. (157) beobachteten bei 20 Wochen alten SHR unter Hexamethonium (30 mg/kg) einen stärkeren Blutdruckabfall als bei gleichaltrigen NR, jedoch blieb der Blutdruck bei SHR höher als bei NR; der periphere Gefäßwiderstand war unter der Ganglienblockade bei SHR niedriger als bei NR. Andere Autoren konnten bei 8 und 13 Wochen (234, 235) bzw. 4 - 5 Monate (21) alten Tieren diese Wirkungen von Hexamethonium nicht reproduzieren (Die jeweils verwendete Dosis wurde nicht angegeben).

Pfeffer u. Mitarb. (175, 177) fanden bei 10 Wochen alten SHR ein verglichen mit NR erhöhtes Herzzeitvolumen. Gebe von SHR und gleichzeitig des Betablockers Sotalol brachte die-

sen Unterschied zum Verschwinden. Blutdruck und peripherer Gefäßwiderstand blieben jedoch bei SHR erhöht. Die Autoren schließen daraus auf eine verminderte parasymphatische und erhöhte betaadrenerge Stimulation des Herzens bei SHR. Andere Autoren (134) fanden gleichartige Ergebnisse bei 6 Wochen alten Tieren. Atropin allein führt zur Erhöhung der Herzfrequenz bei normotonen Ratten (9 - 12 und 18 - 33 Wochen alt), wirkt aber nur geringfügig bei gleichaltrigen SHR (173). Die Autoren schließen daraus auf eine verminderte tonische Vagusaktivität bei SHR. Pfeffer u. Mitarb. fanden ein vermindertes Ansprechen 22 - 27 Wochen alter SHR auf exogen zugeführtes Noradrenalin und das Alpha-Sympathicomimetic Methoxamin (173, 177) sowie auf Isoproterenol (176) und führten dies auf einen erhöhten Ruhetonus des sympathischen Nervensystems zurück. Numao u. Mitarb. (156) fanden bei 20 Wochen alten SHR, verglichen mit NR, eine stärkere Wirkung des Alphablockers Phenoxybenzamin auf peripheren Widerstand und Blutdruck sowie des Betablockers Propranolol auf die Herzfrequenz. Bunag und Takeda konnten durch Gabe von Propranolol ins Trinkwasser von der Geburt bis zur 12. Lebenswoche (22) bzw. von der 10. bis 22. Lebenswoche (229) den Blutdruck bei SHR senken, während er bei NR nicht beeinflusst wurde. Die fehlende Normalisierung des Blutdrucks durch Betablocker bei SHR läßt sich durch eine Gegenregulation des peripheren sympathischen Nervensystems erklären: Gabe von Propranolol führt nur nach Durchschneiden des N. splanchnicus zur Blutdrucksenkung (102).

6. Periphere Sympathektomie. Wird die Entwicklung des peripheren sympathischen Nervensystems durch Gabe von nerve growth factor antiserum (NGFAS), eines Antikörpers gegen periphere Nervenendigungen in der ersten Lebenswoche verhindert, dann unterbleibt der Blutdruckanstieg bei SHR mit dem Alter, das Blutdruckverhalten normotoner Kontrollratten wird nicht beeinflusst: Der Blutdruck NGFAS-behandelter SHR ist gleich dem behandelten und unbehandelten NR (29, 30, 165). Die gleiche Wirkung hat Guanethidin, zusammen mit niedrigen, für sich allein nur unvollständig wirkenden Dosen von NGFAS (105). Auch zentrale Applikation von 6-Hydroxydopamin in die Gehirnventrikel kann den Blutdruckanstieg bei SHR weitgehend verhindern (165, 190). Der bei SHR erhöhte periphere Gefäßwiderstand wird durch zentral appliziertes 6-Hydroxydopamin nicht beeinflusst, NGFAS führt zu einer Erniedrigung, aber nicht Normalisierung dieser Größe (165).

Mechanische Ausschaltung des peripheren sympathischen Nervensystems durch Durchtrennung der Grenzstränge des Rückenmarks sowie der Nn. vagi führt bei 11 Wochen alten NR und SHR zu einem Absinken von Blutdruck und Herzfrequenz auf gleiche Werte (242). Cardiovasculäre Denervierung durch mechanische Zerstörung des Rückenmarks führt bei 6 - 7 Monate alten NR und SHR zu einem Absinken des Blutdrucks auf annähernd gleiche Werte. Der periphere Gefäßwiderstand bleibt trotz dieser Maßnahme bei SHR erhöht (7).

7. Katecholamine und peripheres Gefäßsystem. Die Angaben zur peripheren vasokonstriktorischen Wirkung von Katecholaminen sind widersprüchlich: Lais u. Mitarb. (115, 117) fanden bei

SHR (8 - 10 Monate alt) eine erhöhte Ansprechbarkeit peripherer Gefäße auf Noradrenalin, die Schwellendosis für eine Kontraktion war bei SHR stark herabgesetzt. Lee u. Mitarb. (124) fanden eine verstärkte Wirkung von Noradrenalin und Tyramin auf den peripheren Gefäßwiderstand bei 2,5 - 3 Monate alten SHR, verglichen mit NR. Hermsmeyer (79) untersuchte die Depolarisation des Membranpotentials an Gefäßmuskelzellen der Schwanzarterie 6 - 10 Wochen alter NR und SHR und fand bei Zugabe von Noradrenalin eine bei SHR, verglichen mit NR verstärkte und verlängerte Depolarisation des Membranpotentials der Muskelzelle. Nosaka u. Mitarb. (155) und Yamori (262) senkten den Gefäßwiderstand der hinteren Extremität durch sympathische Denervierung bei 3 - 4 Monate alten Versuchstieren und infundierten anschließend Noradrenalin: Die Wirkung gleicher Dosen war bei SHR stärker; trotzdem war bei SHR die doppelte Dosis Noradrenalin nötig, um den zuvor bestehenden Gefäßwiderstand wiederherzustellen. Im Gegensatz dazu fanden Spector u. Mitarb. (210) an Gewebestreifen aus der Aorta 7 - 10 Wochen alter SHR eine verglichen mit NR geringere kontraktile Antwort auf Noradrenalin, sowie auf Serotonin und KCl.

Folkow, Hallböök u. Mitarb. (49, 50, 70, 71) fanden an Streifenpräparaten aus Aorta und Pfortader von 7 - 9 Monate alten NR und SHR gleiche Dosis- Wirkungskurven auf Noradrenalin, jedoch eine bei SHR stärkere Noradrenalinwirkung am intakten Gefäß. Die Autoren führen dies auf die erhöhte Wanddicke/Radius-Relation an den Gefäßen spontan hypertoner Ratten zurück, für die sie eine genetische Ursache vermuten. Auch Mulvany u. Mitarb. fanden am Gefäßsystem 5 - 6 Monate alter NR und SHR eine gleiche Halbwirksamkeit (ED_{50}) für Noradrenalin (*47).

Die angeführten Befunde sprechen in der Mehrzahl für eine Beteiligung des sympathischen Nervensystems an der Genese kardiovaskulärer Veränderungen an der spontan hypertonen Ratte:

Möglicherweise trägt eine erhöhte sympathische Stimulation des Herzens zu einer normalen Ventrikelfunktion trotz vermindelter Geschwindigkeitsparameter am isolierten Papillarmuskel (Abb. 2) und am isolierten kontraktilem Protein (Abb. 24) bei.

Da die Ventrikelhypertrophie der Hochdruckentwicklung vorangeht (Abschnitt 3.3.), könnte eine erhöhte sympathische Stimulation einer der für die Hypertrophie verantwortlichen Faktoren sein, da im Experiment Noradrenalin in subhypertensiven Dosen zu einer Hypertrophie führt (120, 121, 150). Es ist jedoch nicht nötig, einen externen Einfluß auf das Myokard als Hypertrophiestimulus zu postulieren, da eine verminderte myocardiale Kontraktilität auch über Vorgänge innerhalb des Herzmuskels zur Hypertrophieentwicklung führen kann (121, 150).

Die Beobachtung einer Herzhypertrophie trotz peripherer Sympathektomie mit nerve growth factor antiserum (29, 30, 164, 165) spricht gegen die Annahme eines externen sympathischen Einflusses als entscheidenden Hypertrophiefaktor.

Die oben erwähnten Ergebnisse lassen eine Beteiligung des sympathischen Nervensystems an der Pathogenese des Hochdrucks der SHR möglich erscheinen. Ein erhöhter Sympathicustonus dürfte jedoch nicht als einzige wesentliche Ursache der Hochdruckentstehung in Frage kommen: Eine genetische Analyse des Blutdruckverhaltens des SHR-Stammes zeigte, daß mindestens 2 - 3 voneinander unabhängige Gene die Hochdruckentwicklung bei SHR wesentlich determinieren (230, 231), so daß es nicht gerechtfertigt erscheint, die Hochdruckentstehung im Wesentlichen auf einen einzigen Faktor zurückzuführen (236).

Eine weitere genetische Komponente bei der Hochdruckentstehung könnte am Gefäßsystem lokalisiert sein: Folkow, Hallböök u. Mitarb. (49, 50, 70, 71) führen den erhöhten peripheren Gefäßwiderstand sowie das verstärkte Ansprechen auf Noradrenalin bei SHR auf die erhöhte Wanddicke/Radius-Relation an den Arterien zurück und vermuten dafür eine genetische Ursache. Für diese Annahme spricht, daß Oparil und Cutilletta (165) durch nerve growth factor antiserum und 6-Hydroxydopamin zwar die Hochdruckentwicklung, nicht aber eine Zunahme des peripheren Gefäßwiderstandes bei SHR, verglichen mit NR verhindern konnten. Prewitt und Dowell (186) fanden bei 3 Wochen alten prähypertensiven SHR einen erhöhten peripheren Widerstand.

4. BEZIEHUNG ZWISCHEN MECHANISCHEN PARAMETERN AM ISOLIERTEN KONTRAKTILEN PROTEIN, MECHANISCHEN PARAMETERN AM HERZMUSKEL UND ENZYMATISCHEN PARAMETERN AM ISOLIERTEN HERZMUSKELMYOSIN

Die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} stellt ein Maß dar für die Geschwindigkeit der Querbrückenrotation unter definierten Bedingungen am isolierten kontraktilen Protein. Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, welche Beziehung besteht zwischen

diesem Parameter und

1. dem Herzgewicht und der Herz- Körpergewichtsrelation
2. Kontraktilitäts- und Geschwindigkeitsparametern am isolierten linksventrikulären Papillarmuskel: $dl/dt_{\max}$, $dT/dt_{\max}$, $(dT/dt_{\max})/P_o$
3. der ATPase- Aktivität des isolierten linksventrikulären Myosin unter definierten chemischen Bedingungen (Ca^{++} -ATPase, Mg^{++} -ATPase),

sowie der Frage, ob dabei Unterschiede bestehen zwischen normotonen und spontan hypertonen Ratten.

4.1. Herz- Körpergewichtsrelation und Herzgewicht

Wie Abb. 25 zeigt, besteht keine eindeutige Beziehung zwischen der Herz- Körpergewichtsrelation und der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} .

Wird jedoch τ^{-1} zum Herzgewicht in Beziehung gesetzt (Abb. 26), so ergibt sich eine deutliche Korrelation zwischen beiden Parametern sowohl bei NR als auch bei SHR: Mit zunehmendem Herzgewicht nimmt τ^{-1} ab, d. h. die Querbrückenrotation wird langsamer. Dabei ergeben sich für NR und SHR eindeutig zwei unterschiedliche Korrelationsgeraden, d. h. die enge Beziehung zwischen Herzgewicht und τ^{-1} besteht nur innerhalb der Kollektive der normotonen und spontan hypertonen Ratten, nicht aber für beide Gruppen gemeinsam. Daraus läßt sich ableiten, daß der Hypertrophiegrad als alleinige Determinante zur Erklärung des Verhaltens der Geschwindigkeit der Querbrückenbewegung nicht ausreicht.

Die von Alpert u. Mitarb. (10, 11) diskutierte Ökonomisierung der Querbrückenbewegung, die nach Ansicht dieser Autoren in einer Verlangsamung der Querbrückenbewegung als Reaktion auf die Hypertrophie besteht, um auf diese Weise den ATP- Verbrauch zu senken, kommt einer Determinierung der Geschwindigkeit der Querbrückenbewegung durch den Hypertrophiegrad gleich und reicht damit zur Erklärung der Veränderungen am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten nicht aus.

Die unterschiedlichen Korrelationsgeraden der Beziehung zwischen Herzgewicht und τ^{-1} bei NR und SHR lassen weiterhin den Schluß zu, daß die Verringerung der Geschwindigkeit der Querbrückenbewegung bei SHR als alleinige Determinante des Hypertrophiegrades zur Erklärung des Verhaltens des Herzgewichtes nicht ausreicht.

Da weder das Verhalten der Geschwindigkeitskonstanten das Herzgewicht, noch das Herzgewicht das Verhalten der Geschwindigkeitskonstanten zu erklären vermag, muß wohl eine bereits diskutierte (Abschnitte 3.2, 3.3) genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten zur Erklärung mit herangezogen werden.

4.2. $dl/dt_{\max}$, $dT/dt_{\max}$ und $(dT/dt_{\max})/P_o$ am Papillarmuskel

Das altersabhängige Verhalten dieser Parameter bei NR und SHR ist in Abb. 2 gezeigt.

Abb. 28 zeigt, daß zwischen τ^{-1} und der maximalen isotonischen Verkürzungsgeschwindigkeit $dl/dt_{\max}$ des Papillarmuskels eine positive Beziehung besteht. Dabei läßt sich jedoch nicht eindeutig entscheiden, ob diese Beziehung für NR und SHR gemeinsam gilt, oder ob es sich um zwei unterschiedliche Korrelationsgeraden handelt.

Zwischen τ^{-1} und dem Kontraktilitätsparameter $dT/dt_{\max}$, der maximalen Geschwindigkeit des isometrischen Spannungsanstiegs im Papillarmuskel ergeben sich für NR und SHR zwei deutlich unterschiedliche Korrelationsgeraden. Wird $dT/dt_{\max}$ auf die isometrische Ruhespannung P_o relativiert, so ergibt sich zwischen τ^{-1} und dem spannungsunabhängigen Geschwindigkeitsparameter $(dT/dt_{\max})/P_o$ wegen der großen Schwankungsbreite der letzteren Größe keine erkennbare Beziehung (Abb. 29).

Aus der genannten Beziehung zwischen der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} am isolierten kontraktilen Protein und den Kontraktilitäts- bzw. Geschwindigkeitsparametern am Papillarmuskel läßt sich folgern, daß die Geschwindigkeit der Querbrückenbewegung die Kontraktionsgeschwindigkeit des intakten Herzmuskels

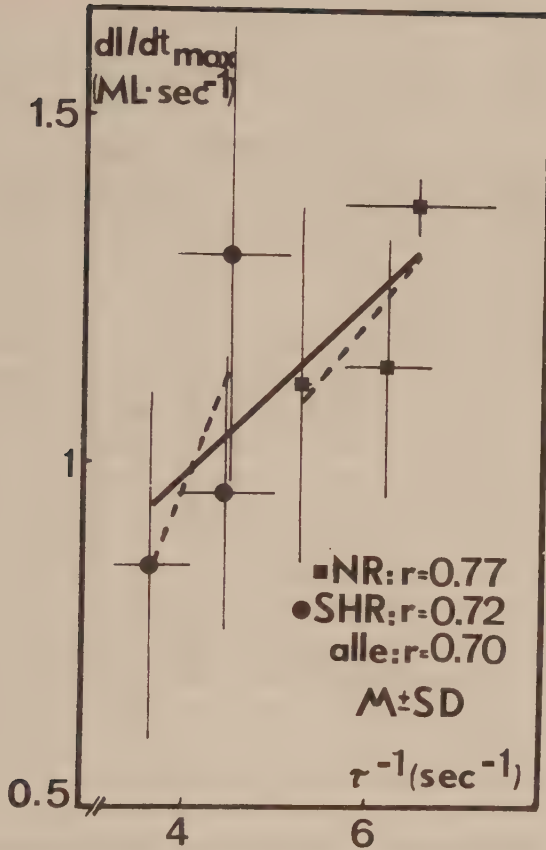


Abb. 28: Beziehung zwischen dem Geschwindigkeitsparameter τ^{-1} am isolierten kontraktilen Protein und der maximalen isotonischen Verkürzungsgeschwindigkeit dl/dt_{max} am linksventrikulären Papillarmuskel (Vgl. Abb. 2). Aufgetragen sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Wertepaare von NR und SHR der verschiedenen Altersgruppen. Die unterbrochenen Linien zeigen die für die verschiedenen Gruppen normotoner bzw. spontan hypertoner Ratten getrennt bestimmten Korrelationsgeraden an, die ununterbrochene Linie die für alle 6 Kollektive gemeinsam bestimmte Korrelationsgerade.

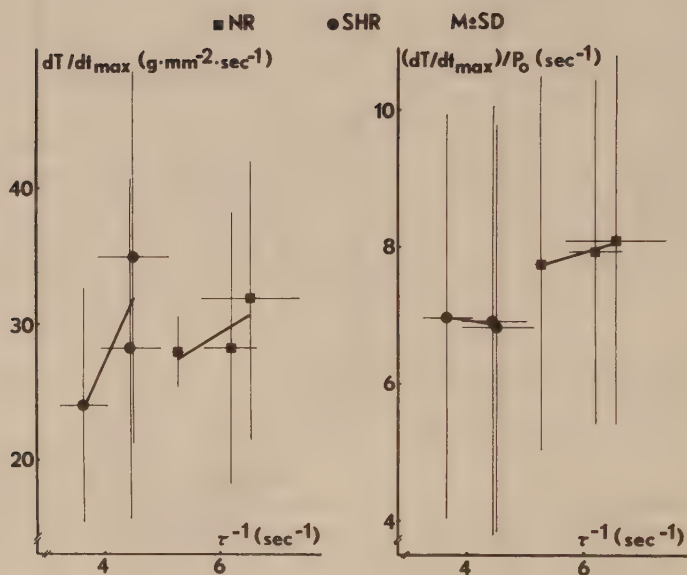


Abb. 29: Beziehung zwischen dem Geschwindigkeitsparameter τ^{-1} am isolierten kontraktilen Protein und der maximalen Geschwindigkeit des isometrischen Spannungsanstiegs $dT/dt_{\max}$ bzw. der auf die maximale isometrische Spannungsentwicklung relativierten maximalen Geschwindigkeit des isometrischen Spannungsanstiegs $(dT/dt_{\max})/P_o$ am linksventrikulären Papillarmuskel normotoner bzw. spontan hypertoner Ratten.

wesentlich mitbestimmt, jedoch nicht als alleinige Determinante zur Erklärung ausreicht.

Der Einstrom von Calciumionen ins Zellinnere ist am Herzmuskel schneller als die darauffolgende Kraftentwicklung (9, 10, 139, 254). Daraus läßt sich folgern, daß nicht die Ca^{++} -Freigabe vom sarkoplasmatischen Retikulum ins Zellinnere, sondern die Aktivierung auf dem Niveau der kontraktilen Proteine geschwindigkeitsbegrenzend für die Kontraktionsgeschwindigkeit des Herzmuskels ist. Dies bietet eine Erklärung für den beobachteten Zusammenhang zwischen τ^{-1} am isolierten kontraktilen Protein und den Geschwindigkeitsparametern am Papillarmuskel.

Eine Reihe von Faktoren, die bei der Bestimmung von τ^{-1} nicht erfasst werden, müssen in Rechnung gestellt werden, um die annähernd normale Funktion des linken Ventrikels und des Papillarmuskels bei der spontan hypertonen Ratte trotz der herabgesetzten Geschwindigkeit der Bewegung des isolierten kontraktilen Proteins zu erklären, und damit auch die unterschiedlichen Korrelationsgeraden zwischen mechanischen Parametern des intakten Myokards und der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} zumindest teilweise zu erklären:

- Die Geschwindigkeit der Reaktion der Regulatorproteine Troponin und Tropomyosin mit den Calciumionen sowie die Geschwindigkeit der darauffolgenden Freigabe von Bindungsstellen am dünnen Filament. Diese Reaktionsgeschwindigkeiten bestimmen die Geschwindigkeit der Aktivierung auf dem Niveau der kontraktilen Proteine mit, die geschwindigkeitsbegrenzend ist für die Kontraktion des Herzmuskels (9, 10, 139, 254). Da während der Dehnungsaktivierung die Ca^{++} -Konzentration konstant ist und eine Bindung von Calciumionen an Proteine des kontraktilen Systems nicht stattfindet (188), werden diese Vorgänge durch die Geschwindigkeitskonstante τ^{-1} nicht erfasst.

- Ca^{++} -Aufnahme und -Bindungsfähigkeit des sarkoplasmatischen Retikulums sind am Herzen von SHR, verglichen mit NR herabgesetzt (12, 13, 126). Dies könnte zu einer Erhöhung der durchschnittlichen intrazellulären Ca^{++} -Konzentration führen (13, 14, 56, 169), die eine der Determinanten für die Parameter

$dl/dt_{\max}$ und $dT/dt_{\max}$ ist (112). Diese Veränderungen am sarkoplasmatischen Retikulum sind nicht spezifisch für die spontan hypertone Ratte, sondern werden bei verschiedenen Formen der Herzhypertrophie gefunden (32).

- Am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten ist die Dauer des ventrikulären Aktionspotentials verlängert (73). Auch diese Veränderung ist unspezifisch und tritt bei verschiedenen Formen der Hypertrophie auf (66, 78).

- Bei der Betrachtung der Ventrikelfunktion in situ müssen die in Abschnitt 3.4 erwähnten Unterschiede in der Funktion des autonomen Nervensystems zwischen NR und SHR berücksichtigt werden.

4.3. ATPase- Aktivität des Myosins

Die ATPase- Aktivität des isolierten linksventrikulären Myosins zeigt den ATP- Umsatz durch isoliertes Myosin unter definierten chemischen Bedingungen an und ist damit ein Indikator für den enzymatischen Aspekt der Querbrückenbewegung. Abb. 30 (aus 142) zeigt das Verhalten der Myosin- ATPase- Aktivität unter zwei verschiedenen chemischen Bedingungen bei NR und SHR in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Wie Abb. 31 (aus 142) zeigt, besteht zwischen der ATPase- Aktivität des Myosin und der maximalen isotonischen Verkürzungsgeschwindigkeit des Papillarmuskels eine enge Beziehung, wobei sich für NR und SHR gleiche Korrelationsgeraden ergeben.

Abb. 32 zeigt die Beziehung zwischen der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} und der Mg^{++} - bzw. Ca^{++} - ATPase- Aktivität des isolierten linksventrikulären Myosins. Zwischen τ^{-1} und den ATPase- Aktivitäten zeigt sich sowohl bei normotonen als auch bei spontan hypertonen Ratten eine positive Korrelation. Für die Beziehung zwischen τ^{-1} und Ca^{++} - ATPase, weniger eindeutig auch von τ^{-1} und Mg^{++} - ATPase bestehen jedoch zwei unterschiedliche Korrelationsgeraden für NR und SHR. Dies deutet auf Unterschiede im kontraktilen Apparat zwischen normotonen und

spontan hypertonen Ratten hin, die möglicherweise im Sinne der oben diskutierten genetisch bedingten Veränderung am Herzmuskel von SHR zu verstehen sind.

Eine positive Korrelation zwischen τ^{-1} und ATPase- Aktivität, wie sie bei NR und bei SHR in Abb. 32 gezeigt ist, besteht auch beim Vergleich von Herzmuskeln verschiedener Tierspezies und von unterschiedlichen Muskelarten (Herz-, Skelet-, Insektenflugmuskeln; 75, 213 - 215, 239).

Beim Vergleich von τ^{-1} und Myosin- ATPase- Aktivitäten ist zu berücksichtigen, daß bei der ATPase- Messung am isolierten Myosin die Eigenschaften der am dünnen Filament lokalisierten Proteine, insbesondere der Myosinbindungsstelle am Actin sowie der Regulatoren der Actin- Myosin- Wechselwirkung, Troponin und Tropomyosin nicht erfaßt werden (205), sowie daß die chemischen Bedingungen der ATPase- Messung von den bei der Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} verwendeten verschiedenen sind.

4.4. Maximale isometrische Spannungsentwicklung und Ca^{++} -Ansprechbarkeit des isolierten kontraktilen Proteins

Wie Abb. 2 zeigt, ist am Papillarmuskel spontan hypertoner Ratten die maximal entwickelte isometrische Spannung P_0 höher als bei NR. Abb. 23 zeigt, daß die Stiffness bei niedriger Calciumionenkonzentration, ausgedrückt als Prozent der maximalen Stiffness, bei SHR höher ist als bei NR. In Abb. 33 sind diese beiden Größen zueinander in Beziehung gesetzt. Dabei läßt sich keine positive Korrelation erkennen. Damit dürfte nicht die unterschiedliche Ca^{++} - Ansprechbarkeit des isolierten kontraktilen Proteins, sondern andere Veränderungen, etwa die bei SHR verminderte Ca^{++} - Bindungsfähigkeit des sarkoplasmatischen Retikulums (14, 74, 126) die für die gesteigerte isometrische Spannungsentwicklung am Papillarmuskel spontan hypertoner Ratten entscheidenden Faktoren sein.

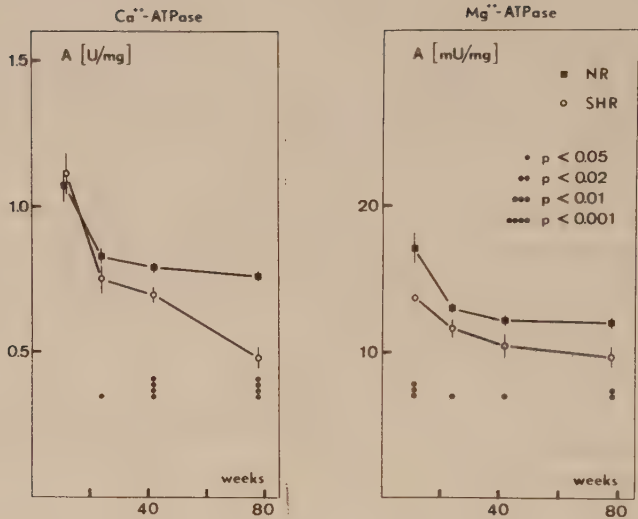


Abb. 30: Verhalten der ATPase- Aktivität des isolierten links-ventrikulären Myosins normotoner und spontan hypertoner Ratten in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Aus 142.
Inkubationslösungen: Für Ca⁺⁺- ATPase: Trispuffer 50 mM, CaCl₂ 10 mM, ATP 2 mM, KCl 0.5 M, pH 7.5.
Mg⁺⁺- ATPase: Tris-maleat 20 mM, MgCl₂ 2 mM, ATP 1 mM, KCl 0.14 M, pH 7.5.

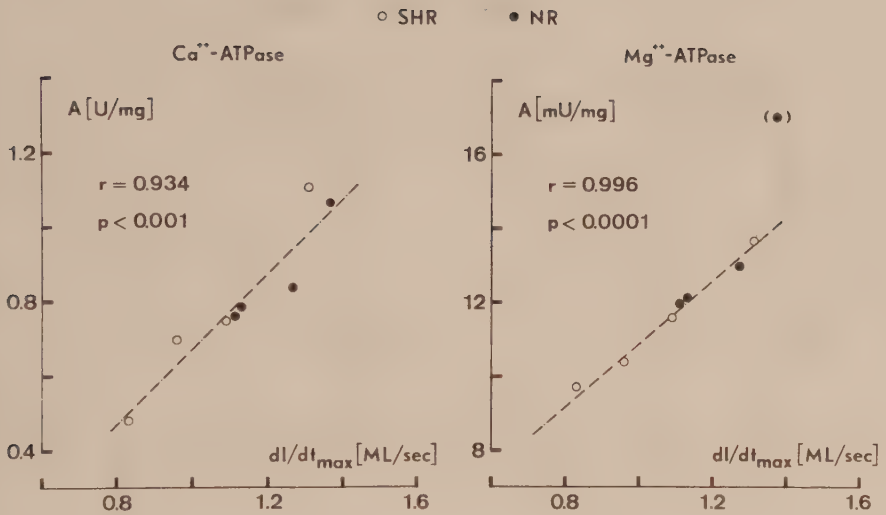


Abb. 31: Korrelation von $dl/dt_{\max}$ und Ca^{++} - bzw. Mg^{++} -ATPase-Aktivität des isolierten linksventrikulären Myosins (aus 142). Angegeben sind die Mittelwerte der verschiedenen Altersgruppen. Der in Klammern gesetzte Wert für die Mg^{++} -ATPase-Aktivität 10 Wochen alter NR wurde bei der Regressionsanalyse nicht berücksichtigt.

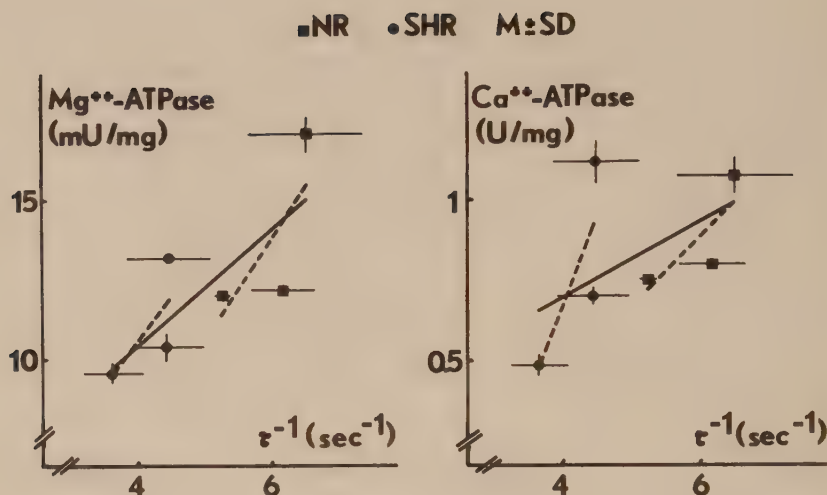


Abb. 32: Beziehung zwischen der Geschwindigkeitskonstanten τ^{-1} am isolierten kontraktilen Protein und der Mg⁺⁺- bzw. Ca⁺⁺-ATPase- Aktivität am isolierten linksventrikulären Myosin. Angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen verschiedener Altersgruppen (10, 38, 80 Wochen) normotoner und spontan hypertoner Ratten.

Die Daten der Regressionsgeraden sind:

für τ^{-1} - Mg⁺⁺- ATPase:

NR: $y = -5.38 + 3.18 x; \quad r = 0.727$

SHR: $y = -0.67 + 2.78 x; \quad r = 0.714$

alle Werte: $y = 3.10 + 1.82 x; \quad r = 0.772$

für τ^{-1} - Ca⁺⁺- ATPase:

NR: $y = -0.409 + 0.213 x; \quad r = 0.799$

SHR: $y = -1.465 + 0.529 x; \quad r = 0.793$

alle Werte: $y = 0.225 + 0.116 x; \quad r = 0.539$

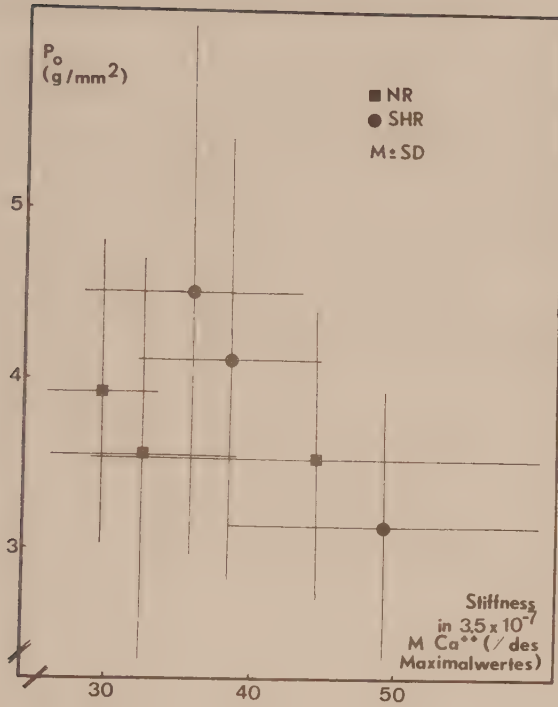


Abb. 33: Beziehung zwischen maximaler isometrischer Spannungsentwicklung des Papillarmuskels P_o (vgl. Abb. 2) und Stiffness bei 3.5×10^{-7} M Ca^{++} , ausgedrückt als Prozent der maximalen Stiffness (vgl. Abb. 23).

5. SPONTANE HYPERTONIE DER RATTE UND ESSENTIELLE HYPERTONIE DES MENSCHEN

In den vorausgegangenen Abschnitten wurde eine genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten, verglichen mit normotonen Wistar- Kyoto- Ratten postuliert. Damit werden Vergleiche zwischen der spontanen Hypertonie der Ratte und der essentiellen Hypertonie des Menschen erschwert.

Bei der Betrachtung von Veränderungen am Herzen spontan hypertoner Ratten müssen zwei Faktoren berücksichtigt werden:

1. Am Herzmuskel der spontan hypertonen Ratte besteht - unabhängig vom Blutdruck - eine genetisch bedingte Veränderung.
2. Am Herzen der spontan hypertonen Ratte bestehen eindeutig blutdruckabhängige Veränderungen (25, 146a, 154a, 170).

Für die Annahme einer Veränderung am Herzen des Menschen mit essentieller Hypertonie, die der genetisch bedingten Veränderung am Inzuchtstamm der SHR vergleichbar wäre, besteht kein Anlass, zumal dem menschlichen essentiellen Hochdruck ein multifaktorielles Geschehen zugrunde liegt und nicht wie bei der spontan hypertonen Ratte eine erbliche Erkrankung mit 100%iger Penetranz.

Die postulierte genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel der spontan hypertonen Ratte beeinträchtigt nicht die Bedeutung pharmakologischer Studien an diesem Modell, etwa über die Auswirkungen einer antihypertensiven Therapie, wobei der Vergleich zwischen behandelten und unbehandelten SHR sowie zwischen behandelten und unbehandelten NR gezogen werden muß, aber nicht zwischen NR und behandelten SHR, trotz möglicherweise ähnlicher Blutdruckwerte.

ZUSAMMENFASSUNG

An funktionell isolierten kontraktilen Proteinen des Herzmuskels 2 bis 110 Wochen alter normotoner Wistar- Kyoto- Ratten (NR) und spontan hypertoner Ratten (SHR) wurden mechanische Experimente mit der Methode der schnellen Dehnung durchgeführt. Dabei wurden der Dehnungswiderstand der Präparate bei schneller Dehnung (Stiffness) bei verschiedenen Konzentrationen freier Calciumionen im umgebenden Milieu als Maß für die Anzahl im Augenblick der Dehnung angehefteter Myosinquerbrücken und die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs (Dehnungsaktivierung) als Maß für die Rotationsgeschwindigkeit der Querbrücken bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion:

1. Die Analyse der Längen- Kraft- Beziehung während des dehnungssynchronen Kraftanstiegs bzw. entdehnungssynchronen Kraftabfalls ergibt, daß für die Myosinquerbrücken als das Substrat der Serieelastizität das Hooke'sche Gesetz gilt.

2. Der Bewegungsumfang der einzelnen Querbrücke wird auf 12 - 14 nm geschätzt. Dies stimmt mit Angaben in der Literatur überein.

3. Die maximal erreichbare Stiffness der Herzmuskelpräparate, d. h. die Stiffness bei hoher Calciumionenkonzentration, zeigt keine erkennbaren Unterschiede zwischen verschiedenen Altersgruppen oder zwischen NR und SHR.

4. Die Stiffness bei niedriger Calciumionenkonzentration liegt bei Präparaten von SHR höher als bei Präparaten von NR.

5. Die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs an Herzmuskelpräparaten nimmt sowohl bei NR als auch bei SHR mit dem Alter der Tiere ab.

6. Die Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs ist bei SHR niedriger als bei NR, und zwar in allen Altersstufen, auch im prähypertensiven Stadium der SHR. Als Ursache dafür wird eine genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel der SHR postuliert.

7. Zwischen dem Herzgewicht und der Geschwindigkeit des ver-

zögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs besteht bei NR und bei SHR eine negative Korrelation, die jedoch für beide Gruppen unterschiedlich ist.

8. Zwischen der Geschwindigkeit des verzögerten dehnungsreaktiven Kraftanstiegs einerseits und andererseits

- a. der isotonischen Kontraktionsgeschwindigkeit und
- b. der isometrischen Kontraktionsgeschwindigkeit des linksventrikulären Papillarmuskels, sowie
- c. der ATPase-Aktivität des isolierten Herzmuskelmyosins

bestehen jeweils lose Korrelationen, die jedoch für NR und SHR unterschiedlich zu sein scheinen.

9. Die postulierte genetisch bedingte Veränderung am Herzmuskel spontan hypertoner Ratten erschwert eine Übertragung von Ergebnissen, die bei der spontan hypertonen Ratte gewonnen wurden, auf die Verhältnisse beim Menschen mit essentieller Hypertonie.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Abbot RH: Comments on the mechanism of force generation in striated muscles. *Nature New Biol.* 230, 182-186 (1970)
- 2 Abbot RH: The effects of fibre length and calcium ion concentration on the dynamic response of glycerol extracted insect fibrillar muscle. *J. Physiol.* 221, 195-209 (1972)
- 3 Abbot RH: The relationship between biochemical kinetics and mechanical properties. In: *Insect flight muscle*. Hrsg. Ingebar CT. Amsterdam, New York, Oxford 1977, 269-273
- 4 Abbot RH, Chaplain RA: Preparation and properties of the contractile element of insect fibrillar muscle. *J. Cell Sci.* 1, 311-330 (1966)
- 5 Abbot RH, Steiger GJ: Temperature and amplitude dependence of tension transients in glycerinated skeletal and insect fibrillar muscle. *J. Physiol.* 266, 13-42 (1977)
- 6 Aidley DJ, White DCS: Mechanical properties of glycerinated fibres from the tymbal muscles of a brazilian cicada. *J. Physiol.* 205, 179-192 (1969)
- 7 Albrecht I, Hallböök M, Julius S, Lundgren Y, Stear L, Weiss L, Folkow B: Arterial pressure, cardiac output and systemic resistance before and after pithing in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta physiol. scand.* 94, 378-385 (1975)
- 8 Allen DG, Blinks JR: Calcium transients in aequorin-injected frog cardiac muscle. *Nature* 272, 509-513 (1978)
- 9 Allen DG, Kurihara S: Calcium transients at different muscle lengths in rat ventricular muscle. *J. Physiol.* 292, 68P-69P (1979)
- 10 Alpert NR, Mulieri LA, Litten RZ: Functional significance of altered adenosine triphosphatase activity in enlarged hearts. *Amer. J. Cardiol.* 44, 947-952 (1970)
- 11 Alpert NR, Mulieri LA: The utilization of energy by the myocardium hypertrophied secondary to pressure overload. In: *The heart in hypertension*. Hrsg. Strauer BE. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1981, 152-163
- 12 Aoki K, Ikeda N, Hotta K: Cardiac myofibrillar adenosine triphosphatase activity and calcium binding of microsomes in the spontaneously hypertensive rat. In: *Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications*. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/Berlin, Heidelberg, New York 1972, 172-175

- 13 Aoki K, Ikeda N, Yamashita K, Hotta K: ATPase activity and Ca^{2+} interaction of myofibrils and sarcoplasmic reticulum isolated from the hearts of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 15, 425-434 (1974)
- 14 Aoki K, Yamashita K, Suzuki A, Takikawa K, Hotta K: Uptake of calcium ions by sarcoplasmic reticulum from heart and arterial smooth muscle in the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Clin. Exp. Pharm. Physiol. Suppl.* 3, 27-30 (1976)
- 15 Berte L, Cutiletto A, Sodi P, Arcilla R: Myocardial hypertrophy and hemodynamics in hypertensive rats. *Circulation* 52, II-44 (1975)
- 16 Ring OHL, Matsushita S, Fanburg BL, Levine HJ: Mechanical properties of rat cardiac muscle during experimental hypertrophy. *Circulat. Res.* 28, 224-245 (1971)
- 17 Blondé T, Krammker JM, Kramer AFJL: Elasticity as an expression of cross-bridge activity in rat muscle. *Pflügers Arch.* 336, 277-289 (1972)
- 18 Brakke CJ, Grosser ML: Separation and characterization of the troponin components from bovine cardiac muscle. *J. Biol. Chem.* 251, 866-871 (1976)
- 19 Brandt DD, Weber A: Calcium binding to rabbit skeletal myosin under physiological conditions. *Biochim. biophys. Acta* 376, 366-374 (1975)
- 20 Brenner B: Indirekter Nachweis einer dehnungsinduzierten Calciumionen-Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum glyzerinierter Skelett- und Herzmuskelpräparate. *Basic Res. Cardiol.* 74, 177-202 (1979)
- 21 Brody MJ, Haywood JR, Shaffer BA: Contribution of neurogenic vasoconstrictor tone to arterial pressure and vascular resistance in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Fed. Proc.* 38, 1222 (1979)
- 22 Buncia RD, Iakeda K: Propranolol prevents development of spontaneous hypertension in rats by reducing sympathetic vasomotor tone. *Fed. Proc.* 38, 1234 (1979)
- 23 Bürger S, Strauer BF: Ventrikelfunktion und Kontraktilitätsreserve bei der spontanen essentiellen Hypertonie der Ratte. *Verh. dtsh. Ges. Kreisf.-forsch.* 42, 250-260 (1977)
- 24 Bürger S, Meinardus A, Strauer BF: Hypertrophiegrad und Dynamik des linken Ventrikels bei der spontanen essentiellen Hypertonie der Ratte. *Klin. Wschr.* 56, 207-209 (1979)

- 25 Bürger SB, Strauer BE: Left ventricular hypertrophy in chronic pressure load due to spontaneous essential hypertension. I. Left ventricular function, left ventricular geometry, and wall stress. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1981, 13-25
- 26 Bürger SB, Strauer BE: Left ventricular hypertrophy in chronic pressure load due to spontaneous essential hypertension. II. Contractility of the isolated left ventricular myocardium, and left ventricular stiffness. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1981, 37-52
- 27 Chapman RA: Excitation-contraction coupling in cardiac muscle. Progr. Biophys. molec. Biol. 25, 1-52 (1979)
- 28 Coray A, Fry CH, Hess P, McGuigan JAS, Weingart R: Resting calcium in sheep cardiac tissue and in frog skeletal muscle measured with ion-selective micro-electrodes. J. Physiol. 305, 60P-61P (1980)
- 29 Cuttilletta AF, Trinoff L, Heller A, Low J, Oparil S: Development of left ventricular hypertrophy in young spontaneously hypertensive rats after peripheral sympathectomy. Circulat. Res. 40, 429-434 (1977)
- 30 Cuttilletta AF, Benjamin M, Culpepper WS, Oparil S: Myocardial hypertrophy and ventricular performance in the absence of hypertension in spontaneously hypertensive rats. J. molec. cell. Cardiol. 10, 689-702 (1978)
- 31 Dancker P: The interaction of actin and myosin as the basic reaction in muscular contraction. Fortschr. Zool. 25, 1-71 (1978)
- 32 Daniel JL, Hartshorne DJ: Sulfhydryl groups of natural actomyosin essential for the Ca^{2+} -sensitive response: location and properties. Biochim. biophys. Acta 278, 567-576 (1972)
- 33 Dhallu NS, Das PK, Sharma GP: Subcellular basis of cardiac contractile failure. J. molec. cell. Cardiol. 10, 362-385 (1978)
- 34 Donaldson MMK, White DCS: The elasticity of insect flight muscle. J. Physiol. 271, 22P-23P (1977)
- 35 Dowell RT, McManus RF: Pressure-induced cardiac enlargement in neonatal and adult rats: Left ventricular functional characteristics and evidence of cardiac muscle cell proliferation in the neonate. Circulat. Res. 40, 302-310 (1978)

- 36 Ebashi S: Calcium ions and muscle contraction. *Nature* 240, 217-218 (1972)
- 37 Ebashi S, Endo M: Calcium ion and muscle contraction. *Progr. Biophys. mol. Biol.* 18, 123-183 (1968)
- 38 Ebashi S, Endo M, Ohtsuki I: Control of muscle contraction. *Quart. Rev. Biophys.* 2, 351-384 (1969)
- 39 Eisenberg E, Dobkin L, Kielley WW: Heavy meromyosin: evidence for a refractory state unable to bind to actin in the presence of ATP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69, 667-671 (1972)
- 40 Eisenberg E, Kielley WW: Evidence for a refractory state of heavy meromyosin and subfragment-1 unable to bind to actin in the presence of ATP. *Cold Spring Harbour Symp. quant. Biol.* 37, 145-152 (1973)
- 41 Eisenberg E, Hill TL: A cross-bridge model of muscle contraction. *Progr. Biophys. molec. Biol.* 37, 55-82 (1978)
- 42 Elison C, Fairhurst AS, Howell JN, Jenden DJ: Calcium uptake in glycerol-extracted rabbit psoas muscle fibers. I: Biochemical properties and conditions for uptake. *J. cell. comp. Physiol.* 65, 133-140 (1965)
- 43 Embry R, Briggs AH: Factors affecting contraction and relaxation in dog glycerinated cardiac fibers. *Amer. J. Physiol.* 210, 826-830 (1966)
- 44 Endo M: Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiol. Rev.* 57, 71-108 (1977)
- 45 Endo M, Tanaka M, Ogawa Y: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. *Nature* 228, 34-36 (1970)
- 46 Fabiato A, Fabiato F: Calcium and cardiac excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.* 41, 473-484 (1979)
- 47 Fairhurst AS, Palus DA, Jenden DJ: Uptake of calcium by glycerinated cardiac slices. *Circulat. Res.* 21, 433-438 (1967)
- 48 Farmer BB, Harris RA, Jolly WW, Vail WJ: Studies on the cardiomegaly of the spontaneously hypertensive rat. *Circulat. Res.* 35, 102-110 (1974)
- 49 Folkow B, Hallböök M, Lundgren Y, Sivertsson S, Weiss L: The importance of adaptive changes in vascular design for the establishment and maintenance of primary hypertension, as studied in man and in spontaneously hypertensive rat. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and

complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 102-114

- 50 Folkow B, Hallbäck M: Cardiovascular responses to acute mental stress in spontaneously hypertensive rats. In: Hypertension. Current problems. Hrsg. Distler A, Wolff HP. Stuttgart 1974, 1-6
- 51 Ford LE, Huxley AF, Simmons RM: The instantaneous elasticity of frog skeletal muscle fibres. J. Physiol. 260, 28P-29P (1976)
- 52 Ford LE, Huxley AF, Simmons RM: Tension responses to sudden length changes in stimulated frog muscle fibres near slack length. J. Physiol. 260, 441-515 (1977)
- 53 Fozzard HA: Heart: Excitation-contraction coupling. Ann. Rev. Physiol. 39, 201-220 (1977)
- 54 Fraser AB, Eisenberg E, Kielley WW, Carlson ED: The interaction of heavy meromyosin and subfragment 1 with actin. Physical measurements in the presence and absence of adenosine triphosphate. Biochemistry 14, 2207-2214 (1975)
- 55 Frieswick GM, Shideman FF: Alterations of cardiac beta receptors during development in normotensive (NT) and spontaneously hypertensive rats (SH). Fed. Proc. 39, 1193 (1980)
- 56 Froehlich JP, Lokatta FG, Beard E, Spurgeon HA, Weisfeldt ML, Gerstenblith G: Studies on sarcoplasmic reticulum function and contraction duration in young adult and aged rat myocardium. J. molec. cell. Cardiol. 10, 427-438 (1978)
- 57 Fuchs F: Striated muscle. Ann. Rev. Physiol. 36, 461-502 (1974)
- 58 Fujiwara M, Kuchii M, Shibata S: Differences of cardiac reactivity between spontaneously hypertensive and normotensive rats. Eur. J. Pharmacol. 19, 1-11 (1972)
- 59 Goodall MC: Auto-oscillations in extracted muscle fibre systems. Nature 177, 1238-1239 (1956)
- 60 Graeser ML, Gergely J: Purification and properties of the components from troponin. J. Biol. Chem. 248, 2125-2133 (1973)
- 61 Gray BF: Reversibility and biological machines. Nature 253, 436-437 (1975)
- 62 Grimm AF, Lin HL, Grimm BR: Left ventricular free wall and intraventricular pressure - sarcomere length distributions. Amer J. Physiol. 239, H101-H107 (1980)

- 63 Grobecker H: Sympatho- neuronale und sympatho- adrenale Aktivität bei experimenteller und essentieller Hypertonie. Verh. dtsh. Ges. Kreisf.-forsch. 42, 2-9 (1973)
- 64 Grobecker H, Roizen MF, Weise Y, Saavedra JM, Kopin IJ: Sympathoadrenal medullary activity in young spontaneously hypertensive rats. Nature 258, 267 (1975)
- 65 Grollman A: The spontaneously hypertensive rat: An experimental analogue of essential hypertension in the human being. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 238-242
- 66 Güth RW: Alterations in excitation of mammalian myocardium as a function of chronic loading and their implications in the mechanical events. Basic Res. Cardiol. 75, 73-80 (1980)
- 67 Güth K, Kuhn HJ: Cross bridge elasticity in the presence and absence of ATP. Pflügers Arch 362, R25 (1976)
- 68 Güth K, Kuhn HJ: Stiffness and tension during and after sudden length changes of glycerinated rabbit psoas muscle fibres. Biophys. Struct. Mechanism 4, 223-236 (1978)
- 69 Güth K, Kuhn HJ, Drexler B, Barberich W, Rüegg JC: Stiffness and tension during and after sudden length changes of glycerinated single insect fibrillar muscle fibres. Biophys. Struct. Mechanism 5, 255-276 (1979)
- 70 Hallböck M: Interaction between central neurogenic mechanisms and changes in cardiovascular design in primary hypertension: Experimental studies in spontaneously hypertensive rats. Acta physiol. scand. Suppl. 424 (1975)
- 71 Hallböck M, Lundgren Y, Weiss L: Reactivity to noradrenaline of aortic strips and portal veins from spontaneously hypertensive and normotensive rats. Acta physiol. scand. 81, 175-181 (1971)
- 71a Hamet P, Kunes J, Fletcher K, Genest J: Cardiac hypertrophy in newborn spontaneously hypertensive rats. In: Proceedings of the 4th international symposium on rats with spontaneous hypertension and related studies. Hrsg. Ganten D. Stuttgart, New York (im Druck)
- 72 Harris P, Opie L: Calcium and the heart. London, New York 1971
- 73 Hayashi H, Shibata S: Electrical properties of cardiac cell membrane of spontaneously hypertensive rats. Eur. J. Pharmacol. 27, 355-359 (1974)

- 74 Heilmann C, Lindl T, Müller W, Pette D: Characterization of cardiac microsomes from spontaneously hypertensive rats. *Basic Res. Cardiol.* 75, 92-96 (1980)
- 75 Heinl P: Mechanische Aktivierung und Deaktivierung der isolierten contractilen Struktur des Froschsartorius durch rechteckförmige und sinusförmige Längenänderungen. *Pflügers Arch* 333, 213-226 (1972)
- 76 Heinl P, Herzig J, Sawaya MCB, Steiger G: Myofibrilläre Rückkopplung von Längen- und Spannungsänderungen in isolierten kontraktilen Strukturen verschiedener Vertebratenmuskeln mit unterschiedlicher Schlagfrequenz. *Pflügers Arch.* 339, R12 (1973)
- 77 Heinl P, Huhn KJ, Rüegg JC: Tension responses to quick length changes of glycerinated skeletal muscle fibres from the frog and tortoise. *J. Physiol.* 237, 243-258 (1974)
- 78 Heller LJ, Stauffer EK: Altered electrical and contractile properties of hypertrophied cardiac muscle (SHR and doca-treated WKY). *Fed. Proc.* 38, 975 (1979)
- 79 Hermsmeyer K: Electrogenesis of increased norepinephrine sensitivity of arterial vascular muscle in hypertension. *Circulat. Res.* 38, 362-367 (1976)
- 80 Herzig JW: Vergleichende physiologische Studien zum Mechanismus der Dehnungsaktivierung quergestreifter Muskeln. Doktorarbeit Heidelberg 1975
- 81 Herzig JW: Mode of stretch activation in heart muscle. *Pflügers Arch* 355, R13 (1975)
- 82 Herzig JW: Effect of inotropic interventions on stiffness during heart beat. *Pflügers Arch* 368, R1 (1977)
- 83 Herzig JW: A cross bridge model for inotropism as revealed by stiffness measurements in cardiac muscle. *Basic Res. Cardiol.* 73, 272-286 (1978)
- 84 Herzig JW: Mechano- chemische Untersuchungen zum Mechanismus der Regulation der myokardialen Kraftentwicklung und Inotropie. Habilitationsschrift, Universität Heidelberg 1979
- 85 Herzig J, Steiger GJ, Rüegg JC: Rückkopplungsmechanismus in den Myofibrillen von Herzmuskeln. *Pflügers Arch.* 335, R12 (1972)
- 86 Huxley AF: Muscle structure and theories of contraction. *Progr. Biophys. molec. Biol.* 7, 255-318 (1957)
- 87 Huxley AF: Review lecture: muscular contraction. *J. Physiol.* 243, 1-43 (1974)

- 88 Huxley AF, Simmons RM: A quick phase in the series elastic component of striated muscle, demonstrated in isolated fibres from the frog. *J. Physiol.* 208, 53P-53P (1970)
- 89 Huxley AF, Simmons RM: Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature* 233, 533-538 (1971)
- 90 Huxley AF, Simmons RM: Mechanical properties of cross-bridges of frog striated muscle. *J. Physiol.* 218, 59P-60P (1971)
- 91 Huxley AF, Simmons RM: Mechanical transients and the origin of muscular force. Cold Spring Harbour Symp. quant. Biol. 37, 669-680 (1973)
- 92 Huxley HE: The contractile structure of cardiac and skeletal muscle. *Circulation* 24, 328-335 (1961)
- 93 Huxley HE: The mechanism of muscular contraction. *Science* 164, 1356-1366 (1969)
- 94 Huxley HE: The structural basis of muscular contraction. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 178, 131-149 (1971)
- 95 Huxley HE: Structural changes in the actin- and myosin-containing filaments during contraction. Cold Spring Harbour Symp. quant. Biol. 37, 361-376 (1973)
- 96 Huxley HE, Brown W: The low-angle X-ray diagram of vertebrate striated muscle and its behaviour during contraction and rigor. *J. molec. Biol.* 30, 383-434 (1967)
- 97 Ikeda M, Tanijiri H, Kashii C, Takatsu T: Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. II: Electron-microscopic study on the development of cardiac hypertrophy. *Jap. Heart J.* 15, 203-204 (1974)
- 98 Imamura K, Kawamura K, Takatsu T, Kashii C: Ultrastructural study on hypertrophied myocardium in spontaneously hypertensive rats: A qualitative and quantitative comparison of left and right ventricle. *Jap. Heart J.* 20, 700 (1979)
- 99 Iriuchijima J: Sympathetic discharge rate in spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 14, 350-356 (1973)
- 100 Iriuchijima J: Effect of increasing age on hemodynamics of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 15, 185 (1974)
- 101 Iriuchijima J: Sympathetic discharge rate in SHR. In: The nervous system in arterial hypertension. Hrsg. Julius S, Esler MD. Springfield/ Ill. 1976, 51-56

- 102 Iriuchijima J: Lowering of blood pressure in sympathectomized spontaneously hypertensive rats on beta adrenoreceptor blockade. *Jap. Heart J.* 20, 726 (1979)
- 103 Jacob R, Brenner B, Ebrecht G, Holuharsch C, Medugorac I: Elastic and contractile properties of the myocardium in experimental cardiac hypertrophy of the rat. Methodological and pathophysiological considerations. *Basic Res. Cardiol.* 75, 253-261 (1980)
- 104 Jewell BR, Rüegg JC: Oscillatory contraction of insect fibrillar muscle after glycerol extraction. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 164, 428-459 (1966)
- 105 Johnson EM, Macia RA: Ubiquitous resistance to guanethidine-induced chemical sympathectomy of spontaneously hypertensive rats: a resistance overcome by treatment with antibody to nerve growth factor. *Circulat. Res.* 45, 243-249 (1979)
- 106 Judy WV, Watanabe AM, Henry DP, Besch HR, Murphy WR, Hockel GM: Sympathetic nerve activity: Role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulat. Res.* 38, Suppl. II, II-21-29 (1976)
- 107 Judy WV, Murphy WR, Watanabe AM, Besch HR, Henry DP, Yu PL: Sympathetic nerve activity in spontaneously hypertensive rats. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Proceedings of the 2nd international symposium on the spontaneously hypertensive rats. Hrsg. Geller RG, US Department of health, education and welfare. Washington 1976, 223-236
- 108 Julian FJ: The effect of calcium on the force-velocity relation of briefly glycerinated frog muscle fibres. *J. Physiol.* 218, 117-145 (1971)
- 109 Julian FJ, Sollins KR, Sollins MR: A model for the transient and steady state mechanical behaviour of contracting muscle. *Biophys. J.* 14, 546-562 (1974)
- 110 Kajiwaru N, Kohayashi Y, Hashida J, Uchiyama T: The mechanism of high blood pressure in the SHR. In: Spontaneous Hypertension. Its pathogenesis and complications. Proceedings of the 2nd international symposium on the spontaneously hypertensive rats. Hrsg. Geller RG, US Department of health, education and welfare. Washington 1976, 130-139
- 111 Katz AM: Contractile proteins of the heart. *Physiol. Rev.* 50, 63-178 (1970)
- 112 Katz AM: The force-velocity curve. *Cardiology* 57, 2-10 (1972)

- 113 Katz AM: Congestive heart failure. New Engl. J. Med. 293, 1184-1191 (1975)
- 114 Kuhn HJ: Cross bridge slippage induced by the ATP analogue AMP-PNP and stretch in glycerol- extracted fibrillar muscle fibres. Biophys. Struct. Mechanism 4, 159-168 (1978)
- 115 Lais LT, Shaffer RA, Brody MJ: Neurogenic and humoral factors controlling vascular resistance in the spontaneously hypertensive rat. Circulat. Res. 35, 764-774 (1974)
- 116 Lais LT, Brody MJ: Mechanism of vascular hyperresponsiveness in the spontaneously hypertensive rat. Circulat. Res. 36, 37, Suppl. I, I-216-222 (1975)
- 117 Lais LT, Bhatnagar R, Brody MJ: Role of the sympathetic nervous system in development and maintenance of spontaneous hypertension. In: The nervous system in arterial hypertension. Hrsg. Julius S, Tisler MD. Springfield/ Ill. 1976, 76-92
- 118 Lais LT, Rios LL, Routelle S, diBona FG, Brody MJ: Arterial pressure development in neonatal and young spontaneously hypertensive rats. Blood Vessels 14, 277-284 (1977)
- 119 Lakatta EG, Gerstenblith G, Anacell CS, Shock NW, Weisfeldt ML: Prolonged contraction duration in aged myocardium. J. clin. Invest. 55, 61-68 (1975)
- 120 Laks ML, Morady F, Swan HJC: Myocardial hypertrophy produced by chronic infusion of subhypertensive doses of norepinephrine in the dog. Chest 64, 75-78 (1973)
- 121 Laks ML, Morady F: Norepinephrine - the myocardial hypertrophy hormone? Amer. Heart J. 91, 674-675 (1976)
- 122 Lee KS: Effect of ouabain on glycerol- extracted fibres from the heart containing a 'relaxing factor'. J. Pharmacol. exp. Therap. 132, 149-155 (1961)
- 123 Lee SL, Dhallia NS: Subcellular calcium transport in failing hearts due to calcium deficiency and overload. Amer. J. Physiol. 231, 1159-1165 (1976)
- 124 Lee JY, Walsh GM, Tobia AJ: Intact hindquarter vascular responses of young spontaneously hypertensive rats to norepinephrine and tyramine. Life Sci. 26, 1877-1883 (1980)
- 125 Léger JJ, Berson G, Delcayre C, Klotz C, Schwartz K, Léger J, Stephens M, Swynghedauw B: Heart contractile proteins. Biochimie 57, 1249-1272 (1975)

- 126 Limas CJ, Cohn JN: Defective calcium transport by cardiac sarcoplasmic reticulum in spontaneously hypertensive rats. *Circulat. Res.* 40, Suppl. I, I-62-67 (1977)
- 127 Limas C, Limas CJ: Reduced number of beta-adrenergic receptors in the myocardium of spontaneously hypertensive rats. *Biochem. biophys. Res. Communications* 83, 710-714 (1978)
- 128 Lompre AM, Schwartz K, d'Albis A, Lacombe G, Thiem NV, Swynghedauw B: Myosin isoenzyme redistribution in chronic heart overload. *Nature* 282, 105-107 (1979)
- 129 Lorand L, Moos C: Auto-oscillations in extracted muscle fibre systems. *Nature* 177, 1239 (1956)
- 130 Louis WJ, Spector S, Tabei R, Sjoerdsma A: Synthesis and turnover of norepinephrine in the heart of the spontaneously hypertensive rat. *Circulat. Res.* 24, 85-91 (1969)
- 131 Louis WJ, Tabei R, Spector S, Sjoerdsma A: Studies on the spontaneously hypertensive rat: Genealogy, effects of varying salt intake, and kinetics of catecholamine metabolism. *Circulat. Res.* 24, 25, Suppl. I, I-93-102 (1969)
- 132 Louis WJ, Krauss KR, Kopin IJ, Sjoerdsma A: Catecholamine metabolism in hypertensive rats. *Circulat. Res.* 27, 589-594 (1970)
- 133 Lowey S, Slayter HS, Woods AG, Baker H: Substructure of the myosin molecule: I. Subfragments of myosin by enzymic degradation. *J. molec. Biol.* 42, 1-20 (1969)
- 134 Lundin SA, Hallböök-Nordlander M: Background of hyperkinetic circulatory state in young spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc. Res.* 14, 561-567 (1980)
- 135 Lynn RW, Taylor EM: Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry* 10, 4617-4624 (1971)
- 136 Mannherz HG: On the reversibility of the biochemical reactions of muscular contraction during the absorption of negative work. *FEBS Lett.* 10, 233-236 (1970)
- 137 Mannherz HG, Goody RS: The molecular basis of contractility. *Basic Res. Cardiol.* 69, 88-104, 204-212 (1974)
- 138 Mannherz HG, Goody RS: Proteins of contractile systems. *Ann. Rev. Biochem.* 45, 427-465 (1976)
- 139 Marban E, Rink TJ, Tsien RW, Tsien RY: Free calcium in heart muscle at rest and during contraction measured with Ca^{2+} -sensitive microelectrodes. *Nature* 286, 845-850 (1980)

- 140 Matsumoto M: Morphological studies on the autonomic nervous system of hypertensive rats. I: Histometrical study on the superior cervical sympathetic ganglion of spontaneously hypertensive rats. Jap. Circulat. J. 30, 743-753 (1966)
- 141 Maughan D, Low E, Litten R, Brayden J, Alpert N: Calcium-activated muscle from hypertrophied rabbit hearts: Mechanical and correlated biochemical changes. Circulat. Res. 44, 279-287 (1970)
- 142 Mayr GW, Blünger SB, Strauer BE: Properties of myocardial myosin in left ventricular hypertrophy due to spontaneous essential hypertension in rats. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Berlin, Heidelberg, New York 1981, 131-141
- 143 McAllister RG, Heid J, Bittiger H: Cardiac β -adrenergic receptors in normal and spontaneously hypertensive rats. Circulation 59, 60, II-176 (1979)
- 144 McClellan GB, Winegrad S: Membrane control of cardiac contractility. Nature 268, 261-263 (1977)
- 144a McGiff JC, Quilley CP: The rat with spontaneous genetic hypertension is not a suitable model of human essential hypertension. Circulat. Res. 48, 455-463 (1981)
- 145 Miller A, Tregear RT: Evidence concerning crossbridge attachment during muscle contraction. Nature 226, 1060-1061 (1976)
- 145a Mornet D, Bertrand R, Ponté P, Audemard E, Kossab R: Structure of the actin-myosin interface. Nature 292, 301-306 (1981)
- 146 Moore LL, Hurwitz L, Davenport GR, Landon EJ: Energy-dependent calcium uptake activity of microsomes from the aorta of normal and hypertensive rats. Biochim. biophys. Acta 413, 432-443 (1975)
- 146a Motz W, Ringsawandl G, Göldel N, Strauer BE: Hemodynamics and connective tissue content in SHR hearts under longterm antihypertensive therapy. In: Proceedings of the 4th international symposium on rats with spontaneous hypertension and related studies. Hrsg. Ganten D. Stuttgart, New York (im Druck)
- 147 Mulvany MJ, Hansen PK, Aalkjaer C: Direct evidence that the greater contractility of resistance vessels in spontaneously hypertensive rats is associated with a narrowed lumen, a thickened media, and an increased number of smooth muscle cell layers. Circulat. Res. 43, 854-864 (1978)

- 148 Nagasaki Y: Studies on isometric contractility of glycerinated fibers from normal and failing cardiac muscles, and their response to the administration of ouabain. *Jap. Circulat. J.* 26, 137-140 (1962)
- 149 Nagatsu T, Kato T, Numata Y, Ikuta K, Sano M, Nagatsu I, Umezawa H, Matsuzaki M, Takeuchi T: Catecholamine synthesizing enzymes of spontaneously hypertensive rats (SHR) and microbial hypotensive products. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Proceedings of the 2nd international symposium on the spontaneously hypertensive rat. Hrsg. Geller RG. US Department of health, education and welfare. Washington 1976, 125-129
- 150 Nair KG, Dhuriaty S: Catecholamine- induced hypertrophy. *Amer. Heart J.* 94, 393-394 (1977)
- 151 Nakamura K, Gerald M, Thoenen H: Dopa-salt and spontaneously hypertensive rats. Comparative studies on norepinephrine turnover in central and peripheral adrenergic neurons. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 51-58
- 152 Nakamura K, Nakamura K: Role of brainstem and spinal noradrenergic and adrenergic neurons in the development and maintenance of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305, 127-132 (1978)
- 153 Nayler WG, Merrilllees NCR: Some observations on the fine structure and metabolic activity of normal and glycerinated ventricular muscle of the toad. *J. Cell Biol.* 22, 533-550 (1964)
- 154 Nishimura T, Nishio I, Motoki K, Jimao S, Kuchii M, Masuyama Y: The change of plasma noradrenaline in SHR and experimental hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 21, 561 (1980)
- 154a Noresson E, Ricksten SE, Hallböck- Nordlander M, Thorén P: Performance of the hypertrophied left ventricle in spontaneously hypertensive rat. Effect of changes in preload and afterload. *Acta Physiol. Scand.* 107, 1-8 (1979)
- 155 Nosaka S, Yamori Y, Okta T, Okamoto K: Neural fraction of peripheral vascular resistance and vascular reactivity in the spontaneously hypertensive rat. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 67-72
- 156 Numao Y, Iriuchijima J: Effects of alpha and beta blockers on hemodynamics of SHR. *Jap. Heart J.* 15, 166-172 (1974)

- 157 Numao Y, Suga H, Iriuchijima J: Hemodynamics of spontaneously hypertensive rats in conscious state. *Jap. Heart J.* 16, 719-730 (1975)
- 158 Ogawa Y: The apparent binding constant of glycoether-diaminetetraacetic acid for calcium at neutral pH. *J. Biochem.* 64, 255-257 (1968)
- 159 Okamoto K: Spontaneous hypertension in rats. *Int. Rev. exp. Pathol.* 7, 227-270 (1968)
- 160 Okamoto K, Aoki K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Circulat. J.* 27, 282-293 (1963)
- 161 Okamoto K, Tabei R, Fukushima M, Nosaka S, Yamori Y, Iriuchijima K, Haebara H, Matsumoto M, Maruyama T, Suzuki Y, Tamegai M: Further observations on the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Circulat. J.* 30, 702-716 (1966)
- 162 Okamoto K, Nosaka S, Yamori Y, Matsumoto M: Participation of neural factors in the pathogenesis of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Jap. Heart J.* 8, 168-180 (1967)
- 163 Okamoto K, Yamori Y, Ooshima A, Park C, Haebara H, Matsumoto M, Tanaka T, Okuda T, Hazama F, Kyogoku M: Establishment of the inbred strain of the spontaneously hypertensive rat and genetic factors involved in hypertension. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsq. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 1-8
- 164 Oparil S, Grinoff L, Cuttilletta A: Catecholamines, blood pressure, renin and myocardial function in the spontaneously hypertensive rat. *Clin. Sci. mol. Med.* 51, 455s-459s (1976)
- 165 Oparil S, Cuttilletta AF: Hypertrophy of the denervated heart: A comparison of central sympatholytic treatment with 6-hydroxydopamine and peripheral sympathectomy with nerve growth factor antiserum. *Amer J. Cardiol.* 44, 970-978 (1979)
- 166 Ozaki M, Hotta K, Aoki K: Catecholamine content and metabolism in the brainstem and adrenal gland in the spontaneously hypertensive rat. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsq. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 37-40
- 167 Pak CH, Matsunaga M, Morimoto K, Hara A, Kawai C: Plasma catecholamine of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 20, 729 (1979)

- 168 Pease DC, Jenden DJ, Howell JM: Calcium uptake in glycerol extracted rabbit psoas muscle fibers. II: Electron microscopic localization of uptake sites. *J. cell. comp. Physiol.* 65, 141-154 (1965)
- 169 Penpargkul S, Bhan AK, Sheuer J: Studies of subcellular control factors in hearts of uremic rats. *J. Lab. clin. Med.* 88, 563-570 (1976)
- 170 Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fishbein MC, Frohlich ED: Cardiac function and morphology with aging in the spontaneously hypertensive rat. *Amer. J. Physiol.* 227, H461-H468 (1979)
- 171 Pfeffer J, Pfeffer M, Fletcher P, Braunwald E: Alterations of cardiac performance in rats with established spontaneous hypertension. *Amer. J. Cardiol.* 44, 994-998 (1979)
- 172 Pfeffer J, Pfeffer M, Fletcher P, Braunwald E: Impaired cardiac performance in rats with long-term spontaneous hypertension. In: *The heart in hypertension*. Hrsg. Strauer BE. Berlin, Heidelberg, New York 1981, 383-399
- 173 Pfeffer MA, Frohlich ED: Hemodynamics of spontaneously hypertensive rats. I. Effects of pressure elevation. *Amer. J. Physiol.* 224, 1066-1071 (1973)
- 174 Pfeffer MA, Pfeffer JM, Frohlich ED: Autonomic inhibition in spontaneously hypertensive (SHR) rat. *Fed. Proc.* 32, 351 (1973)
- 175 Pfeffer MA, Frohlich ED, Pfeffer JM, Weiss AK: Pathophysiological implications of the increased cardiac output of young spontaneously hypertensive rats. *Circulat. Res.* 34,35, Suppl. I, I-235-244 (1974)
- 176 Pfeffer MA, Pfeffer JM, Frohlich ED: Hemodynamics of the spontaneously hypertensive rat. Effects of isoproterenol. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 145, 1025-1030 (1974)
- 177 Pfeffer MA, Pfeffer JM, Frohlich ED: Autonomic inhibition in spontaneously hypertensive rats. In: *The nervous system in arterial hypertension*. Hrsg. Julius S, Esler MD. Springfield/ Ill. 1976, 60-72
- 178 Pfeffer MA, Pfeffer JM, Frohlich ED: Pumping ability of the hypertrophied left ventricle of the spontaneous hypertensive rat. *Circulat. Res.* 38, 423-429 (1976)
- 179 Podolsky RJ: Muscle physiology and contraction theories. *Circulation* 24, 399-409 (1961)

- 180 Podolsky RJ, Nolan AC: Cross-bridge properties derived from physiological studies of frog muscle fibers. In: Contractility of muscle cells and related processes. Hrsg. Podolsky RJ. Englewood Cliffs/ New Jersey 1974, 247-260
- 181 Podolsky RJ, Onge RS, Yu L, Lynn RW: X-ray diffraction of actively shortening muscle. Proc. natl. Acad. Sci. USA 72, 813-817 (1976)
- 182 Pollock CH, Iwazumi T, ter Keurs HEDJ, Shibata EF: Sarcomere shortening in striated muscle occurs in stepwise fashion. Nature 268, 757-759 (1977)
- 183 Portzehl H, Caldwell PC, Rüegg JC: The dependence of contraction and relaxation of muscle fibres from the crab *maia squinada* on the internal concentration of free calcium ions. Biochim. biophys. Acta 79, 581-591 (1964)
- 184 Potter JD, Gergely J: Troponin, tropomyosin and actin interactions in the Ca^{2+} regulation of muscle contraction. Biochemistry 13, 2697-2703 (1974)
- 185 Potter JD, Seidel JC, Leavis PC, Lehrer SS, Gergely J: Interaction of Ca^{2+} with troponin. In: Calcium binding proteins. Hrsg. Drabikowski W, Strzalecka-Golaszewska H, Carafoli F, Amsterdam 1974, 120-152
- 186 Prewitt RL, Dowell RF: Pressure-flow relations during the development of spontaneous hypertension in the rat (SHR). Fed. Proc. 38, 1376 (1979)
- 187 Pringle JWS: The contractile mechanism of insect fibrillar muscle. Progr. Biophys. molec. Biol. 17, 1-60 (1967)
- 188 Pringle JWS: The mechanical characteristics of insect fibrillar muscle. In: Insect flight muscle. Hrsg. Tregear RT. Amsterdam, New York, Oxford 1977, 177-196
- 189 Pringle JWS: Stretch activation of muscle: Function and mechanism. Proc. roy. Soc. Lond. B 201, 107-130 (1978)
- 190 Provoost AP, de Jong W: Influence of neonatal chemical sympathectomy on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats (SHR) and in rats with renal or corticosteroid hypertension. Clin. exp. Pharm. Physiol. Suppl. 3, 145-149 (1976)
- 191 Pybus J, Tregear R: Estimates of force and time of actomyosin interaction in an active muscle and of the number interacting at any one time. Cold Spring Harbour Symp. quant. Biol. 37, 655-660 (1973)
- 192 Reedy MK, Holmes KC: Induced changes in the orientation of the crossbridges of glycerinated insect flight muscle. Nature 207, 1276-1280 (1965)

- 193 Reiermann HJ, Herzia JW, Rüegg JC: Ca^{++} activation of ATPase activity, ATP- P_i exchange, and tension in briefly glycerinated heart muscle. *Basic Res. Cardiol.* 72, 133-139 (1977)
- 194 Reilly PJ, Cooksey JD: Cardiac energy stores and creatine in experimental cardiac hypertrophy. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 161, 192-198 (1979)
- 195 Rubin RA, Roth RH: Elevated vascular norepinephrine turnover in resting and stressed spontaneously hypertensive rats. *Fed. Proc.* 39, 368 (1980)
- 196 Rüegg JC: Oscillatory mechanism in fibrillar insect flight muscle. *Experientia* 24, 529-536 (1968)
- 197 Rüegg JC, Steiger GJ, Schädler M: Mechanical activation of the contractile system in skeletal muscle. *Pflügers Arch.* 319, 139-145 (1970)
- 198 Rüegg JC, Schädler M, Steiger G: Dehnungsaktivierung quer-gestreifter Muskeln. *Pflügers Arch.* 316, R68 (1970)
- 199 Rüegg JC, Kuhn HJ, Herzia JW, Dickhaus H: Effect of calcium ions on force generation and elastic properties of briefly glycerinated muscle fibres. In: Calcium transport in contraction and secretion. Hrsg. Carafoli E. et al. Amsterdam 1975, 547-554
- 200 Sacktor B: Investigations on the mitochondria of the house fly, *Musca domestica* L. *J. gen. Physiol.* 36, 371-387 (1953)
- 201 Saeki Y, Sagawa K, Suga H: Transient tension responses of heart muscle in Ba^{2+} contracture to step length changes. *Amer. J. Physiol.* 238, H340-H347 (1980)
- 202 Schädler M, Steiger G, Rüegg JC: Tension transients in glycerol extracted fibres of insect fibrillar muscle (*Lethocerus maximus*). *Experientia* 25, 942-943 (1969)
- 203 Schädler M, Steiger GJ, Rüegg JC: Mechanical activation and isometric oscillation in insect fibrillar muscle. *Pflügers Arch.* 330, 217-229 (1971)
- 204 Schaub MC, Perry SV, Höcker W: The regulatory proteins of the myofibril: Characterization and biological activity of the calcium-sensitizing factor (troponin A). *Biochem. J.* 126, 237-249 (1972)
- 205 Scheuer J, Bhan AK: Cardiac contractile proteins: Adenosine triphosphatase activity and physiological function. *Circulat. Res.* 45, 1-12 (1979)

- 206 Schneider A, Strauer BE: Cross bridge mechanics in the heart muscle of spontaneously hypertensive rats. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Berlin, Heidelberg, New York 1981, 143-151
- 206a Schneider A, Ringsgwardt G, Strauer BE: Actomyosin mechanics and connective tissue content in hearts of normotensive and spontaneously hypertensive rats of different age. In: Proceedings of the 4th international symposium on rats with spontaneous hypertension and related studies. Hrsg. Ganten D. Stuttgart, New York (im Druck)
- 207 Schoenberg M, Wells JB, Podolsky RJ: Muscle compliance and the longitudinal transmission of mechanical impulses. *J. gen. Physiol.* 64, 623-642 (1974)
- 208 Sen S, Tarazi RC, Khairallah PA, Bumpus FM: Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circulat. Res.* 35, 775-781 (1974)
- 209 Simmons RM, Hill TL: Definitions of free energy levels in biochemical reactions. *Nature* 263, 615-618 (1976)
- 210 Spector S, Fleisch JH, Malina HM, Brodie BB: Vascular smooth muscle reactivity in normotensive and hypertensive rats. *Science* 166, 1300-1301 (1969)
- 211 Steiger GJ: Dehnungsaktivierung isolierter contractiler Strukturen des Herzmuskels. *Pflügers Arch.* 319, R19 (1970)
- 212 Steiger GJ: Stretch activation and myogenic oscillation of isolated contractile structures of heart muscle. *Pflügers Arch.* 330, 347-361 (1971)
- 213 Steiger GJ: Mechanische Experimente an Herzmuskelpräparaten. Habilitationsschrift, Universität Bochum 1973
- 214 Steiger GJ: Stretch activation and tension transients in cardiac, skeletal and insect flight muscle. In: Insect flight muscle. Hrsg. Tregear RT. Amsterdam, New York, Oxford 1977, 221-268
- 215 Steiger GJ: Tension transients in extracted rabbit heart muscle preparations. *J. molec. cell. Cardiol.* 9, 671-685 (1977)
- 216 Steiger GJ, Rüegg JC, Boldt KM, Lübbers DW, Breull W: Changes in the polarization of tryptophan in the actomyosin system of working muscle fibers. *Cold Spring Harbour Symp. quant. Biol.* 37, 377-378 (1973)
- 217 Steiger GJ, Brady AJ, Tan ST: Intrinsic regulatory properties of contractility in the myocardium. *Circulat. Res.* 42, 339-350 (1978)

- 218 Strauer BE: Ventrikelfunktion und koronare Hämodynamik bei der essentiellen Hypertonie. Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-forsch. 43, 41-55 (1977)
- 219 Strauer BE: Das Hochdruckherz. Berlin, Heidelberg, New York 1970
- 220 Strauer BE: Ventricular function and coronary hemodynamics in hypertensive heart disease. Amer. J. Cardiol. 44, 990-1006 (1970)
- 221 Strauer BE: Performance, wall dynamics and coronary function of the left ventricle in hypertensive heart disease. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Berlin, Heidelberg, New York 1981, 251-284
- 222 Strauer BE, Bürger SB: Systolic stress, coronary hemodynamics and metabolic reserve in experimental and clinical cardiac hypertrophy. Basic Res. Cardiol. 75, 234-243 (1980)
- 223 Stutz H, Feigelson E, Emerson J, Bing RJ: The effect of digitalis (Cedilanid) on the mechanical and electrical activity of extracted and nonextracted heart muscle preparations. Circulat. Res. 2, 555-564 (1954)
- 224 Suko J, Vogel JHK, Chidsey CA: Intracellular calcium and myocardial contractility. Circulat. Res. 27, 235-247 (1970)
- 225 Swynghedauw B, Schwartz K, Lacombe G, Léger JJ, Thiem NV, Lompre AM: Cardiac myosin in heart overloading. In: The heart in hypertension. Hrsg. Strauer BE. Berlin, Heidelberg, New York 1981, 125-130
- 226 Szent-Györgyi A: Free-energy relations and contraction of actomyosin. Biol. Bull. 96, 140-161 (1949)
- 227 Tabei P: On histochemical studies of the various organs of spontaneously hypertensive rats. Jap. Circulat. J. 30, 717-742 (1966)
- 228 Tabei R, Maruyama T, Kumada M, Okamoto K: Morphological studies on endocrine organs in spontaneously hypertensive rats. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 185-193
- 229 Takeda K, Sasaki S, Kaimasu I, Yoshimura M, Nakagawa M, Iiichi H, Dunlap RD: The effect of propranolol on blood pressure and sympathetic nerve activity in the spontaneously hypertensive rats. Jap. Heart J. 21, 563 (1980)
- 230 Tanase H, Suzuki Y, Oshima A, Yamori Y, Okamoto K: Genetic analysis of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Jap. Circulat. J. 24, 1197-1212 (1970)

- 231 Tanase H, Suzuki Y, Ooshima A, Yamori Y, Okamoto K: Further genetic analysis of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 9-12
- 232 Thorson J, White DCS: Distributed representation for actin-myosin interaction in the oscillatory contraction of muscle. *Biophys. J.* 9, 360-390 (1969)
- 233 Tomanek RJ, Hovanek JM, Bhatnager PK, Brody MJ, Schmid PG: Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats following adrenal demedullation and sympathectomy. *Fed. Proc.* 39, 819 (1980)
- 234 Touw KB, Haywood JR, Shaffer RA, Brody MJ: Contribution of neurogenic vasoconstrictor tone to arterial pressure and vascular resistance in young spontaneously hypertensive rats (SHR). *Circulation* 59, 60, II-179 (1979)
- 235 Touw KB, Brown P, Brody MJ: Role of humoral vasoconstrictors in response to ganglion blockade in conscious spontaneously hypertensive rats (SHR). *Fed. Proc.* 39, 469 (1980)
- 236 Trippodo NC, Frohlich ED: Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. *Circulat. Res.* 48, 309-310 (1981)
- 237 Udenfried S, Spector S: Spontaneously hypertensive rats. *Science* 176, 1155-1156 (1972)
- 238 Ueha Y, Mori K, Tomomatsu T: Modification of catecholamine metabolism in spontaneously hypertensive rats. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 64-66
- 239 Ulbrich M, Rüegg JC: Mechanical factors affecting the ATP-phosphate exchange reaction of glycerinated insect fibrillar muscle. In: Insect flight muscle. Hrsg. Tregear RT. Amsterdam, New York, Oxford 1977, 317-333
- 240 Vetadzōkosa D, Gudeska S, Glavaš F, Sukarowa M, Nikodijević B: Endogenous level of norepinephrine and the sensitivity of adrenergic receptors in spontaneously hypertensive rats. In: Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications. Hrsg. Okamoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 46-50
- 241 Wakabayashi T, Huxley HE, Amos LA, Klug A: Three-dimensional image reconstruction of actin-tropomyosin complex and actin-tropomyosin-troponin T-troponin I complex. *J. molec. Biol.* 93, 477-497 (1975)

- 242 Walsh GM, Tobia AJ: Intrinsic left ventricular performance in the young spontaneously hypertensive rat. Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 8, 623-633 (1974)
- 243 Weber A, Winicour S: The role of calcium in the superprecipitation of actomyosin. J. biol. Chem. 236, 3198-3202 (1961)
- 244 Weber A, Heiz R, Reiss I: Study on the kinetics of calcium-transport by isolated fragmented sarcoplasmatic reticulum. Biochem. Z. 345, 320-369 (1960)
- 245 Weber A, Murray JM: Molecular control mechanisms in muscle contraction. Physiol. Rev. 53, 612-673 (1973)
- 246 Weeds AG, Lowey S: Substructure of the myosin molecule. II. The light chains of myosin. J. molec. Biol. 61, 701-725 (1971)
- 247 Weisfeldt ML, Loeven WA, Shock NW: Resting and active mechanical properties of trabeculae carneae from aged male rats. Amer. J. Physiol. 220, 1921-1927 (1971)
- 248 Weiss L, Lundgren Y: Left ventricular hypertrophy and its reversibility in young spontaneously hypertensive rats. Cardiovasc. Res. 12, 635-638 (1978)
- 249 Wezler K: Die Überwindung der Alleinherrschaft der Starling-Starlingschen Theorie der Herzdynamik durch den Nachweis und die Konzeption der tonischen Autoregulation. Herz/Kreislauf 7, 71-77, 150-160, 199-205 (1975)
- 250 White DCS, Thorson J: Phosphate starvation and the non-linear dynamics of insect fibrillar flight muscle. J. gen. Physiol. 60, 307-336 (1972)
- 251 White DCS: Links between mechanical and biochemical kinetics of muscle. Cold Spring Harbourn Symp. quant. Biol. 37, 201-213 (1973)
- 252 White DCS, Thorson J: The kinetics of muscle contraction. Progr. Biophys. molec. Biol. 27, 173-255 (1973)
- 253 White HD, Taylor EW: Energetics and mechanism of actomyosin adenosine triphosphatase. Biochemistry 15, 5818-5826 (1976)
- 254 Wier WG: Intracellular calcium transients accompanying contraction of mammalian cardiac muscle. Fed. Proc. 38, 1389 (1979)
- 255 Wilkinson JM, Perry SV, Cole HA, Trayer IP: The regulatory proteins of the myofibril: Separation and biological activity of the components of inhibitory- factor preparations. Biochem. J. 127, 215-228 (1972)

- 256 Wilson JA, Elliot PR, Guthe KF, Shappirio DG: Oxygen uptake of glycerol- extracted muscle fibres. *Nature* 184, 1947(1959)
- 257 Wise RM, Rondinone JF, Briggs FN: Effect of pCa on series-elastic components of glycerinated skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.* 224, 576-579 (1973)
- 258 Wolcott RG, Boyer PD: The reversal of the myosin and actomyosin ATPase reactions and the free energy of ATP binding to myosin. *Biochem. biophys. Res. Comm.* 57, 709-716 (1974)
- 259 Yamamoto T, Herzog JW: Series elastic properties of skinned muscle fibres in contraction and rigor. *Pflügers Arch.* 373, 21-24 (1978)
- 260 Yamori Y: Organ differences of catecholamine metabolism in spontaneously hypertensive rats. In: *Spontaneous hypertension. Its pathogenesis and complications*. Hrsg. O'ramoto K. Tokyo/ Berlin, Heidelberg, New York 1972, 59-61
- 261 Yamori Y: Contribution of cardiovascular factors to the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.* 15, 194-196 (1974)
- 262 Yamori Y: Interaction of neural and nonneural factors in the pathogenesis of spontaneous hypertension. In: *The nervous system in arterial hypertension*. Hrsg. Julius S, Esler MD. Springfield/ Ill. 1976, 17-43
- 263 Yamori Y: Neural and non- neural mechanisms in spontaneous hypertension. *Clin. Sci. mol. Med.* 51, 431s-434s (1976)
- 264 Yamori Y, Kihara M, Horie R, Nara Y, Ooshima A: Analysis on the vectorcardiographical pattern of SHR at various ages. *Jap. Heart J.* 21, 565 (1980)

LEBENS LAUF

Am 11. 10. 1956 wurde ich als Sohn des Studienrates Albert Schneider und seiner Ehefrau Anna Maria in München geboren. Von 1963 bis 1966 besuchte ich die Volksschule an der Herterichstraße, von 1966 bis 1974 das Ludwigsgymnasium München. Vom Wintersemester 1974/75 bis zum 11. 5. 1981 studierte ich Humanmedizin an der Ludwig- Maximilians- Universität München. Die Approbation als Arzt erhielt ich am 15. 5. 1981. Seit 5. 10. 1981 bin ich als Wehrpflichtiger bei der Bundeswehr.

